

Aus der Neurologischen Klinik und Poliklinik
im Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin
Geschäftsf. Direktor: Prof. Dr. P. Marx

„Tierexperimentelle Untersuchungen zur
Interaktion von Äthanol und Lösungsmitteln am
peripheren Nervensystem“

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

WOLFGANG JOHANNES REINHOLD LEPS

Berlin ~~1984~~

1985



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548822_0016

Aus der Neurologischen Klinik und Poliklinik
im Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin

Geschäftsf.

Direktor: **Prof. Dr. P. Marx**

"Tierexperimentelle Untersuchungen zur
Interaktion von Äthanol und Lösungsmitteln am
peripheren Nervensystem"

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von:

Wolfgang Johannes Reinhold Leps

Berlin 1984

Referent: Prof. Dr. H. Altenkirch

Koreferent: Prof. Dr. G. von Niding

Promoviert am: 5. Juni 1985

INHALT

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. FRAGESTELLUNG	10
3. MATERIAL UND METHODEN	12
3.1 Versuchstiere	12
3.2 Chemikalien	13
3.3 Äthanolbelastungsphase	13
3.4 Expositionsphase	13
3.5 Regenerationsphase	17
3.6 Untersuchungen	18
3.6.1 Klinische Untersuchungen	18
3.6.2 Neurologische Untersuchungen	18
3.6.2.1 Spreizreflex	18
3.6.2.2 Fallreflex	19
3.6.2.3 Beurteilung des Bewegungsablaufes	19
3.6.2.4 Klettertest	19
3.7 Biochemische Untersuchungen	20
3.8 Histologische Auswertung	21
3.8.1 Peripheres Nervensystem	21
3.8.2 Muskulatur der Hinterbeine	21
3.8.3 Leber	22
4. ERGEBNISSE	23
4.1 Gewichtsentwicklung während der Vor- behandlungsphase mit Äthanol	23
4.2 Expositionsphase	23
4.2.1 Klinische Beobachtungen	23
4.2.1.1 Gewichtsentwicklung	23
4.2.1.2 Sonstige Auffälligkeiten	28
4.2.2 Neurologische Untersuchungen	28
4.2.2.1 Spreizreflex	29

	Seite
4.2.2.2	Fallreflex 29
4.2.2.3	Beurteilung des Bewegungsablaufes 29
4.2.2.4	Klettertest 36
4.2.3	Ergebnisse der biochemischen Untersuchungen 37
4.2.3.1	Transketolaseaktivitätsbestimmung im Blut 37
4.2.3.2	Gamma-Glutamyltransferase-Bestimmung im Serum 39
4.2.4	Lichtmikroskopische Befunde 40
4.2.4.1	Peripheres Nervensystem 40
4.2.4.2	Muskulatur 46
4.2.4.3	Leber 54
4.3	Regenerationsphase 56
4.3.1	Klinische Beobachtungen 56
4.3.1.1	Gewichtsentwicklung während der Regenerationsphase 56
4.3.2	Neurologische Untersuchungen 58
4.3.2.1	Spreizreflex 58
4.3.2.2	Fallreflex 58
4.3.2.3	Beurteilung des Bewegungsablaufes 59
4.3.2.4	Klettertest 59
4.3.3	Ergebnisse der biochemischen Untersuchungen nach der Regenerationsphase 61
4.3.3.1	Transketolaseaktivitätsbestimmung im Blut 61
4.3.3.2	Gamma-Glutamyltransferase-Bestimmung im Serum 62
4.3.4	Lichtmikroskopische Befunde 63
4.3.4.1	Peripheres Nervensystem 63
4.3.4.2	Muskulatur 68
5.	DISKUSSION 76
5.1	Pathogenetische Grundlagen der Hexacarbonpolyneuropathie 76
5.2	Pathogenetische Grundlagen der alkoholischen Polyneuropathie 81

		Seite
5.3	Interaktionen von Lösemitteln und Äthanol in bezug auf das Nervensystem	85
5.4	Eigene Befunde	90
5.4.1	Gewichtsentwicklung	90
5.4.2	Sonstige klinische Auffälligkeiten	92
5.4.3	Neurologische Befunde	
5.4.4	Biochemische Befunde	94
5.4.4.1	Gamma-Glutamyltransferase-Bestimmung im Serum	94
5.4.4.2	Transketolaseaktivitätsbestimmung im Blut	95
5.4.5	Die lichtmikroskopischen Befunde	97
5.4.6	Zusammenfassende Betrachtung der Diskussion	103
6.	ZUSAMMENFASSUNG	107
7.	LITERATURVERZEICHNIS	109

1. EINLEITUNG

Die Bedeutung der Hexacarbonneuropathie in der Industrie

Die Hexacarbonneuropathien sind zu einem weltweit verbreiteten Problem geworden seit Bekanntwerden der ersten Fälle vor 20 Jahren (101, 164, 174).

Danach wurde immer wieder von neuen Erkrankungen berichtet, die auf Lösungsmittelintoxikationen zurückzuführen waren (64, 130, 173).

Vor allem Arbeiter in der Leder-, Schuh- und plastikverarbeitenden Industrie waren betroffen.

1972 wurde erstmals ein Polyneuropathie-Fall bekannt, der im Mißbrauch von Lösungsmitteln in Form von Schnüffeln ("glue-sniffing") begründet war (53).

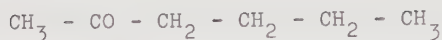
Danach häuften sich die Mitteilungen über Hexacarbonneuropathien (6, 5, 105, 115, 122, 157).

Allein in Italien wurden über 620 Fälle lösungsmittel-induzierter Polyneuropathie-Syndrome in der Schuhindustrie bekannt (82, 93, 21, 18, 17).

Als Ursache wurde in der Mehrzahl der Fälle n-Hexan und vereinzelt Methyl-n-Butyl-Keton verantwortlich gemacht.



n-Hexan



Hexanon (Methyl-n-butyl-Keton (MnBK))



2,5 - Hexandion



Butanon (Methyl-äthyl-Keton (MEK))

Abb. 1: Chemische Formeln der Hexacarbone sowie MEK

Aufgrund ihrer Konfiguration mit sechs C-Atomen werden die aliphatischen Kohlenwasserstoffe im englischen Sprachgebrauch als Hexacarbone bezeichnet.

DiVINCENCO et al. (30, 31) stellten fest, daß n-Hexan und MBK in 2,5-Hexandion und 2,5-Hexandiol gemeinsame Metaboliten besitzt.

SPENCER und Mitarbeiter (133, 137) gelang der Nachweis, daß von diesen 2,5-Hexandion die eigentlich neurotoxische Substanz in der Reihe der Hexacarbonverbindungen darstellt, wobei die 1,4-Diketon-Gruppe für die Neurotoxizität wichtiger ist als die C₆-Kette.

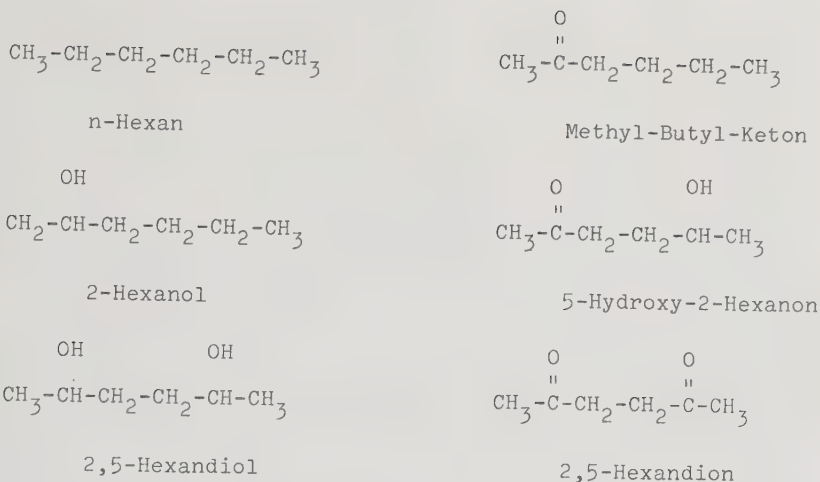


Abb. 1a: Metabolische Wege des n-Hexan und Methyl-n-Butyl-Keton beim Meerschweinchen (nach DI Vincenzo (30))

n-Hexan ist ein weitverbreitetes, billiges Lösungsmittel, das mit anderen organischen Lösungsmitteln gut mischbar ist. In "technischem" n-Hexan beträgt der reine n-Hexan-Anteil 50-55 Gew. %, daneben kommen Isoparaffine und Naphthene vor.

Der n-Hexan-Gehalt in Spezialbenzinen und Petroläther schwankt zwischen < 1 und 35 %. Normalbezin enthält ca. 3,3 Gew. %, Superbenzin 2,6 Gew. % reines Hexan.

Für die Bundesrepublik Deutschland wird die emitierte Gesamtmenge an n-Hexan auf 15 500 Tonnen pro Jahr geschätzt (25).

Die Lösemittelverwertung in der Bundesrepublik Deutschland wird vom Bundesumweltamt mit 1,8 Millionen Tonnen pro Jahr angegeben.

Expositionen gegenüber n-Hexan kommen in der chemischen Industrie (Haftkleber, Kleber für die Gummi-Industrie etc.), in

der Lebensmittelindustrie (Herstellung von Speisefett und Speiseöl), in Druckereien (Reinigungsmittel), in der Gummi-Industrie und der metallverarbeitenden Industrie vor.

Der MAK-Wert (1982) beträgt 180 mg/m^3 (50 ppm) (28).

n-Hexan-haltige Arbeitsstoffe beinhalten meist noch weitere Lösungsmittel wie z.B. Ketone (Aceton, MEK), Halogenkohlenwasserstoffe (TRI, PER), Ester (Essigsäurebutylester) und Aromaten (Toluol, Xylol).

Die Resorption von n-Hexan unter Arbeitsplatz-Konditionen erfolgt in der Regel über die Lungen. Die pulmonale Retention liegt bei ca. 15 % (25).

Daneben ist eine percutane Resorption beschrieben worden, die auch toxisch relevante Belastungen hervorrufen kann (99).

Die alkoholische Polyneuropathie

Nach SCHEID (146) werden die Polyneuropathien in ausgebreitete Erkrankungen der peripheren Neurone und ihrer Hüllsysteme zusammengefaßt, wobei solche Erkrankungen ausgenommen werden, die im Rahmen einer Systemdegeneration oder eines entzündlichen Prozesses primär das Perikaryon betreffen, wie beispielsweise die spinalen Muskelatrophien oder die Poliomyelitiden.

Um Mißverständnisse zu vermeiden, sollte der klassische Begriff "Polyneuritis" nur noch in Zusammenhang mit entzündlichen Polyneuropathien benutzt werden und die nichtentzündlichen Polyneuropathien mit entsprechenden Zusatzbezeichnungen wie z.B. "endokrin", "toxisch", "metabolisch", "hereditär" oder "vaskulär" versehen werden.

Probleme bestehen hinsichtlich der Ätiologie und der Pathogenese bzw. Syndromgenese der Polyneuropathien. Nicht alle Polyneuropathien lassen sich einer Ursache zuordnen. Bei über 10 % konnte in einer Studie von SCHEID (diagnostische Zuordnung der Polyneuropathien von 1950 - 1983) die Herkunft der Erkrankung nicht geklärt werden. Über 6 % der Polyneuropathien waren multifaktorieller Genese.

Die Pathogenese läßt sich nur bei wenigen Polyneuropathieformen bestimmen. Häufig ergeben sich nur Deutungsmöglichkeiten, die jedoch meist unscharf und umstritten sind (146).

Die alkoholische Polyneuropathie ist ein seit langem bekanntes (67, 79) und vielfach beschriebenes Krankheitsbild (10, 12, 38, 49, 68, 69, 78, 95, 98, 103, 147, 168, 170). Sie gilt als eine der häufigsten Folgeerscheinungen des chronischen Alkoholismus auf dem neurologischen Sektor (12, 62, 96, 146, 171) mit einem Anteil von 15 bis 25 %.

Etwa 17 - 30 % aller Polyneuropathien gehen auf Alkoholmißbrauch zurück (62, 75, 96, 146).

Entsprechend den Trinksitten sind vorwiegend Männer betroffen.

Allerdings wird die alkoholische Polyneuropathie in den letzten Jahren zunehmend häufiger bei Frauen angetroffen.

Nach jüngst von SCHEID (146) veröffentlichten Zahlen, beträgt das Verhältnis der männlichen zu den weiblichen Kranken in dessen Patientengut nur noch 3 : 1.

Der Erkrankungsgipfel liegt im mittleren Lebensabschnitt zwischen dem 40. und 60. Lebensjahr.

Die Krankheitssymptome der alkoholischen Polyneuropathie entwickeln sich langsam progredient über Wochen und Monate.

Meist ist schon eine Reflexabschwächung oder Reflexverlust (vor allem der Achillessehnenreflex) eingetreten, bevor der Patient selbst Störungen feststellt.

Die ersten subjektiven Beschwerden des Kranken bestehen in der Regel in Parästhesien oder Spontanschmerzen in den Füßen. Lanzierende und brennende Schmerzempfindungen sind seltener. Manchmal treten die Beschwerden in den oberen und unteren Extremitäten gleichzeitig auf.

Gelegentlich werden Kälteparästhesien, Hyperästhesien, Tiefenpar- und -allästhesien angegeben.

Den sensiblen Reizerscheinungen folgen Ausfälle der Oberflächensensibilität, die beginnend von den Füßen auf den Rumpf übergreifen können. Sind auch die Tiefensensibilität und Lagesinn betroffen, kann das Bild der Ataxie bei Polyneuropathie, die Pseudotabes polyneuropathica, entstehen.

Oft sind auch dann keine motorischen Ausfälle nachweisbar, wenn deutliche Sensibilitätsstörungen vorliegen und die Muskeldehnungsreflexe fehlen.

Nur vereinzelt dominieren motorische Störungen im Sinne von Paresen, wobei dann die Dorsalextensoren der Füße besonders häufig betroffen sind. Fußheberparesen lassen, wenn sie symmetrisch auftreten, zunächst den Verdacht auf eine Peroneuslähmung aufkommen.

Im fortgeschrittenen Stadium können sogar Tetraplegiesyndrome beobachtet werden mit hochgradiger Muskelatrophie.

Vegetativ-trophische Störungen wurden auch von einigen Autoren beschrieben (12, 95, 98, 103). Klinisch imponieren Hyperhidrosis, Marmorierung der Haut, Beinödeme und Ulcera.

Die bisher mitgeteilten histopathologischen Befunde weisen kein einheitliches Bild auf. Einige Autoren stellen die segmentale Demyelinisation in den Vordergrund (26, 86, 154), andere erachten eine axonale Degeneration als verantwortlich für die alkoholische Polyneuropathie (13, 36, 158, 167). Außerdem konnte anhand von Untersuchungen des N. suralis nachgewiesen werden, daß Fälle mit primärer neuroaxonaler Degeneration mit solchen primären Markscheidenzerfalls koinzidieren können (12).

Unklarheit besteht auch hinsichtlich der Ursache für die alkoholische Polyneuropathie. Pathogenetisch werden multifaktorielle Einflüsse diskutiert: einerseits wird eine chronische Mangelernährung, insbesondere ein Vitamin B₁-Defizit mit der Polyneuropathie in Zusammenhang gebracht (42, 74, 86, 106, 155, 162), dagegen herrscht bei anderen Autoren die Meinung vor, daß eine direkte toxische Wirkung des Alkohols und/oder seiner Metaboliten auf den Nerven das Krankheitsbild verursacht (10, 90).

Kombinationsschäden im Industriebereich

Hexacarbonneuropathien in der Industrie sind in den letzten 10 Jahren häufiger beschrieben worden, für die vor allem n-Hexan angeschuldigt wurde, nachdem diese Erkrankung experimentell reproduziert werden konnte (144).

1978 konnte zum ersten mal ein potenzierender Effekt auf die Neurotoxizität von n-Hexan durch MEK nachgewiesen werden (6). Auslöser dieser Untersuchungen waren Polyneuropathie-Syndrome unter Berliner Lösungsmittelschnüfflern, die n-Hexan und MEK enthaltende Verdünnerlösungen inhalierten (5).

1973 wurde eine der größten Erkrankungsserien von Hexacarbonneuropathien in einer Fabrik in Ohio/USA bekannt, die plastiküberzogene und farbenbedruckte Stoffe herstellte.

Jahrelang wurden im Arbeitsprozeß Lösungsmittelgemische aus MEK und MIBK (Methyl-Iso-Buthyl-Keton) verwendet. Aufgrund von Versorgungsschwierigkeiten wurde MIBK durch MBK ersetzt. In der Folge erkrankten 86 Arbeiter an schweren Polyneuropathie-Syndromen (3, 11).

Experimentell konnte gezeigt werden, daß die Kombination von MBK und MEK erheblich toxischer war als MBK allein (122).

Inzwischen liegen weitere Berichte über Interaktionen von Lösungsmitteln vor, bei denen potenzierende und protektive Effekte imponieren.

Eine Verstärkung der Neurotoxizität durch MEK konnte bei Methyl-Heptyl-Keton anhand tierexperimenteller Untersuchungen belegt werden (32).

Jüngst konnte eine Arbeitsgruppe zeigen, daß nicht nur MEK, sondern auch andere, selbst nicht neurotoxische aliphatische Monoketone wie Methyl-n-Propyl-Keton, Methyl-n-Amyl-Keton und Methyl-n-Hexyl-Keton in der Lage sind, additive Effekte auf

die Neurotoxizität von MBK auszuüben (91).

Kombinationsschäden von Äthanol und industriell verwendeten Chemikalien sind nicht selten und im Zunehmen begriffen (28).

Entsprechend den erhältlichen Daten kommen jährlich regelmäßig 3 - 4 Millionen Arbeiter in der Bundesrepublik Deutschland in Kontakt mit Lösungsmitteln (29).

Auf der Basis von Umfragen und Schätzungen kann davon ausgegangen werden, daß ca. 10 %, das entspricht etwa 300 000 bis 400 000 der Arbeiter, die mit Lösungsmitteln konfrontiert werden, Alkoholiker sind (35, 54, 84, 129).

Ähnliche Prozentzahlen werden von Lösemittelarbeitern in Finnland genannt (70).

Die zugrundeliegenden Mechanismen der Interaktion mit Äthanol wurden bisher nur in einzelnen Studien am Menschen unter experimentellen Bedingungen untersucht.

Die Art der Wechselwirkung läßt sich grundsätzlich in 3 Kategorien einordnen:

1. Pharmakokinetische Interaktionen durch Änderung der Pharmakokinetik (Absorption, Verteilung, Metabolismus, Ausscheidung des Arbeitsstoffes oder Äthanols).
2. Pharmakodynamische Interaktionen in Form eines Synergismus (Addition, Potenzierung) oder Antagonismus.
3. Unverträglichkeitsreaktionen (Disulfiram-Äthanol-Reaktion).

2. FRAGESTELLUNG

Wie von verschiedenen Autoren bestätigt wird, sind Alkohol-Interaktionen mit industriellen Schadstoffen nicht selten. Allerdings ist bisher sehr wenig über die auslösenden Mechanismen, die zu Erkrankungen führen können, bekannt geworden. Die publizierten Fälle wurden nur selten durch reproduzierbare Tests experimentell nachgewiesen.

Studien, die die Interaktion von Alkohol und n-Hexan betreffen, sind bisher nicht bekannt geworden. Es liegen lediglich Arbeiten vor, die sich mit der Wechselwirkung von Alkohol und halogeniert aliphatischen sowie aromatischen Kohlenwasserstoffen (Toluol, Benzol, Xylol) befassen (15, 123, 124, 165). Dabei wurden fast durchgehend additive Effekte beobachtet.

Ausschlaggebend für die Fragestellung dieser Arbeit war die Beobachtung von ALTENKIRCH und Mitarbeitern (5), daß ein potenzierender Effekt von MEK auf n-Hexan besteht. Ein derartiger Effekt war ebenfalls von MEK auf MBK experimentell belegbar (122).

Es lag also nahe, die Wirkung von n-Hexan und Alkohol am peripheren Nervensystem zu erforschen, um herauszufinden, ob ebenfalls additive Effekte zu beobachten sind. Zudem sollte die kombinierte Wirkungsweise von n-Hexan und Aceton auf das PNS ermittelt werden.

Zur Lösung der Frage nach der Neurotoxizität der genannten Stoffe, wurden tierexperimentelle Untersuchungen durchgeführt.

Während der Alkohol-Lösungsmittel-Exposition wurden verschiedene Parameter aus folgenden Untersuchungen bestimmt:

1. Klinische Beobachtungen
2. Neuro-behaviouristische Untersuchungen
3. Biochemische Untersuchungen
4. Morphologische Untersuchungen.

Aus dem Ergebnis der Befunde sollte die zentrale Frage beantwortet werden:

Ergeben sich potenzierende Effekte auf die Neurotoxizität am peripheren Nervensystem der Ratte bei kombinierter Applikation von n-Hexan und Alkohol?

Dies ist eine Pilotstudie, da unseres Wissens nach bisher noch keine Arbeit hinsichtlich der Interaktion von Alkohol und n-Hexan veröffentlicht wurde.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten männliche Wistarratten, Stamm Hannover. Zu Beginn der Äthanolbelastungsphase waren die Tiere etwa 4 Monate alt und wiesen ein Anfangsgewicht von 400 bis 500 g auf.

Das Gewicht der Ratten zu Beginn der Expositionsphase lag zwischen 375 und 635 g. Das Alter der Tiere betrug zu diesem Zeitpunkt 15 Monate.

Die Fütterung bestand aus einer Standarddiät (Fa. Altromin).

3.2 Chemikalien

Es wurde n-Hexan verwendet, das auf den Reinheitsgrad gaschromatographisch überprüft wurde (99 % Reinheit, Merck Nr. 4367).

Weitere Reagenzien:

- Äthanol (Fa. Merck)
- Aceton (Fa. Merck)
- Gamma-GT-Mono-Test 10 (Nr. 125 946) - Fa. Böhringer Mannheim

Transketolaseaktivitätsbestimmung:

- Ribose-5-phosphat-Lösung (Fa. Böhringer)
- Thiamin-Pyrophosphat (Fa. Merck)
- 15 % Trichloressigsäure
- 3 % Cysteinlösung (Fa. Merck)
- 0,9 % NaCl-Lösung
- 1,15 % KCl-Lösung
- 3,82 % $MgSO_4$ -Lösung
- 2,29 % K_2HPO_4 -Lösung
- 87 % Schwefelsäure

3.3 Äthanolbelastungsphase

9 Tiere wurden 338 Tage mit Äthanol vorgefüttert. Zu Beginn bekamen die Tiere 5 %ige, danach für 7 Tage 10 %ige und die restlichen 327 Tage 15 %ige ÄthanolLösung als Flüssignahrung. Dazu wurde eine Standarddiät (Fa. Altromin) verabreicht.

3.4 Expositionsphase

Die Expositionsanlage bestand aus einer Plexiglaskammer mit einem Fassungsvermögen von 14 l.

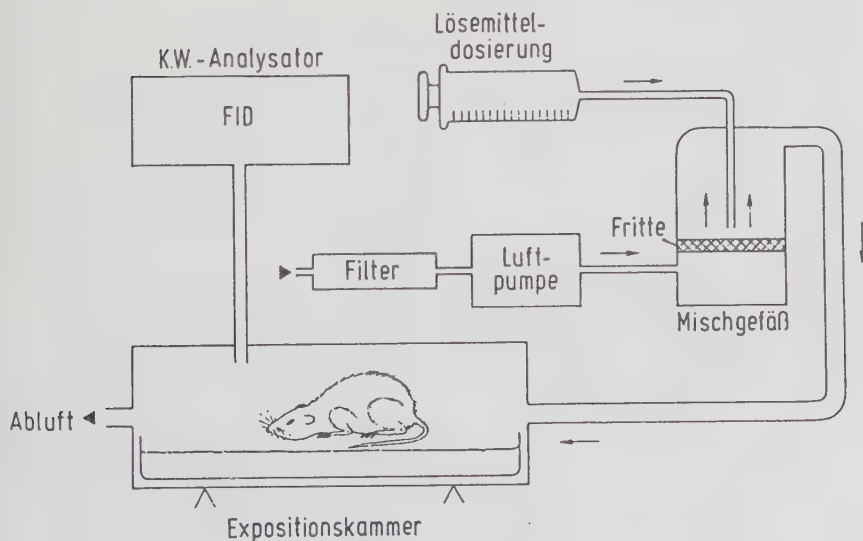


Abb. 1b: Darstellung der Expositionsanlage

4 Tiere saßen in einer solchen Kammer. Die Wartung der Tiere erfolgte 2 mal täglich, wobei jedesmal auf das Laufgitter der Kammer ein in $\text{NaH}_2(\text{HPO}_4)$ -Lösung eingelegter und getrockneter Papierstreifen fixiert wurde. Durch Schaffung eines sauren Mediums am Boden der Kammer wurde dadurch die bakterielle Bildung von Ammoniak verhindert.

Eine Wisa-Pumpe leitete Luft in die Kammern.

Ein Perfusor der Firma Braun erzeugte die jeweils notwendige Lösungsmittelkonzentration.

Der Gesamtluftdurchsatz wurde nun so reguliert, daß die jeweils gewünschte Schadstoffkonzentration eingestellt werden konnte.

Mit Hilfe eines FID wurden die Konzentrationen kontinuierlich aufgezeichnet und 2 mal täglich mit Dräger-Prüfröhrchen kontrolliert. Dabei wurde ein etwa 10facher Luftdurchsatz gewährleistet. Die Tiere wurden 24 h/die/7 Tage pro Woche den Lösungsmitteldämpfen ausgesetzt.

Die Kontroll- und Alkoholgruppe befand sich während der gesamten Expositionsdauer aus Objektivitätsgründen ebenfalls in den beschriebenen Kammern. Im Unterschied zu den anderen Gruppen wurde jedoch lediglich Luft durch die Boxen geleitet.

Allen Tieren stand während der Expositionszeit Altromin-Standardfutter ad libitum zur Verfügung.

Während die Äthanol/n-Hexan-Gruppe und die Äthanol-Gruppe ausschließlich Äthanol als Flüssignahrung angeboten bekam, stand der n-Hexan-, n-Hexan/Aceton-, Aceton- und Kontrollgruppe Leitungswasser ad libitum zur Verfügung.

Die Gruppen setzten sich wie folgt zusammen:

Gruppe	Substanz	Konzentration	Anzahl der Tiere	Applika- tionsform
1	n-Hexan	700 ppm	4	per inhal.
	Äthanol	15 %		per os
2	n-Hexan	700 ppm	4	per inhal.
3	Äthanol	15 %	4	per os
4	n-Hexan	500 ppm	4	per inhal.
	Aceton	200 ppm		per inhal.
5	Aceton	700 ppm	4	per inhal.
6	Kontrolle	Luft	4	per inhal.

Tab. 1: Gruppenzusammensetzung bei Expositionsbeginn

Ein Tier der Aceton-Gruppe starb 22 Tage nach Expositionsbeginn. Es wurde durch eine Ratte gleichen Stammes, gleichen Alters und Geschlechts substituiert. Die Behandlungsdauer betrug lediglich 14 Tage. Anschließend begann die Erholungsphase.

Jeweils ein Tier der n-Hexan/Äthanol-, der n-Hexan- und der Aceton-Gruppe starb nach 40tägiger Expositionsdauer an den Folgen einer eitrigen Pneumonie (Sektion durch das Institut für Veterinärpathologie der Freien Universität Berlin, Prof. Dr. Rudolph).

Bereits nach 10- bzw. 14tägiger Exposition starben zwei Tiere der n-Hexan/Aceton-Gruppe. Beide Tiere wurden durch Ratten des gleichen Stammes, gleichen Alters und Geschlechts ersetzt, von denen allerdings ein Tier 13 Tage später unter dem Bild einer Pneumonie verendete.

Ein Tier der Kontrollgruppe verstarb 24 Tage nach Exposition.

Es ergab sich somit folgende Gruppenkonstellation von Tieren, die ausgewertet werden konnten:

Gruppe	Substanz	Konzentration	Anzahl der Tiere	Applikationsform
1	n-Hexan	700 ppm	3	per inhal.
	Äthanol	15 %		per os
2	n-Hexan	700 ppm	3	per inhal.
3	Äthanol	15 %	4	per os
4	n-Hexan	500 ppm	3	per inhal.
	Aceton	200 ppm		per inhal.
5	Aceton	700 ppm	3	per inhal.
6	Kontrolle	Luft	3	per inhal.

Tab. 2: Gruppenzusammensetzung bei Expositionsende

Histologische Aufarbeitung

Nach der Expositionsphase von 43 Tagen wurden jeweils 2 Tiere aller Gruppen nach einer modifizierten Form der Glutaraldehydperfusion nach PEASE (107), lebend fixiert:

Zur Anästhesie wurden 30 - 100 ml/kg Pentobarbital (Nembutal) i.m. verwendet. Daraufhin schnelle Eröffnung des Thorax mit zwei Parasternalschnitten und Einlegen einer Knopfkanüle durch den eröffneten linken Ventrikel in den ascendierenden Aortenbogen. Eröffnung des rechten Vorhofs und Durchspülung des Kreislaufs mit etwa 100 ml Ringerlösung und etwa 0,2 ml Heparin. Bei noch schlagendem Herzen folgte die Perfusionsfixierung mit 5 % phosphatgepufferter Glutaraldehydlösung (pH 7,36 - 7,43) für etwa 15 Minuten. Ein erforderlicher Perfusionsdruck von 200 cm Wassersäule wurde mit Hilfe eines Infusionssystems, das die Perfusionsflüssigkeit aus entspre-

chender Höhe in die Aorta leitete, gewährleistet.
Der Perfusionserfolg konnte anhand von Muskelfaszikulationen, einer Kontraktur der gesamten Muskulatur und einer gelbbraunen Verfärbung der Akren, nachvollzogen werden.

Danach begann die Sektion und die Entnahme des Nervus ischiadicus (proximaler-, Knie- und distaler Anteil), Rückenmark, Gehirn, Anteile der Unter- bzw. Oberschenkelmuskulatur und der Leber.

Anschließend Immersion der Präparate für ca. 4 h in 5 % Glutaraldehydlösung und Lagerung in 2 % Saccharose Waschlösung. Dann Nachfixation in Osmiumsäure, Dehydrierung in aufsteigender Alkoholreihe und Einbettung in Araldit (SJÖSTRAND (128)).

Etwa 1 μ m dicke Semidünnschnitte (Ultramikrotom OM O3, Firma Reichert) wurden nach RICHARDSEN (114) gefärbt.

3.5 Regenerationsphase

Folgende 7 Tiere wurden nach Beendigung der Expositionsphase zur Untersuchung von Spätfolgen weitere 100 Tage ernährt:

Gruppe	Substanz	Anzahl der Tiere
1	n-Hexan Äthanol	1
2	n-Hexan	1
3	Äthanol	2
4	n-Hexan Aceton	1
5	Aceton	1
6	Kontrolle	1

Tab. 3: Gruppenzusammensetzung während der Regenerationsphase

Die Fütterung erfolgte mit Altromin-Standardfutter und Leitungswasser ad libitum.

Die Tiere wurden regelmäßig auf allgemeine Auffälligkeiten und neurologische Veränderungen hin untersucht und gewogen. Nach 100tägiger Regenerationsphase wurden auch diese Tiere der Fixation nach der unter 3.4 beschriebenen Methode unterzogen.

3.6 Untersuchungen

3.6.1 Klinische Untersuchungen

Hierunter verstehen wir Auffälligkeiten und Veränderungen der Tiere (z.B. Fellverfärbung, Allgemeinzustand, Gewichtsschwankungen), die sich durch neurologische Ausfallerscheinungen alleine nicht erklären lassen. Die Untersuchungen erfolgten in wöchentlichen Abständen.

3.6.2 Neurologische Untersuchungen

Diese Untersuchungen erfolgten ebenfalls wöchentlich und wurden im Blind-Verfahren nach einem Punktesystem vorgenommen.

Folgende Qualitäten wurden überprüft:

3.6.2.1 Spreizreflex

Wenn eine gesunde Ratte an ihrem Schwanz ruckartig nach oben gezogen wird, streckt sie frei schwebend ihre Hinterextremitäten zur Gleichgewichtshaltung weit von sich. Es erfolgt eine Spreizung der Hinterbeine in einem großen Winkel.

3.6.2.2 Fallreflex

Wird eine gesunde Ratte am Schwanz hochgezogen, wobei ihre Vorderläufe jedoch am Boden bleiben und läßt sie wieder nach unten fallen, kommt es zu einem typischen Bewegungsablauf:

Zuerst erfolgt der an o.g. Stelle erwähnte Spreizreflex. Läßt man die Ratte danach zu Fall kommen, ist sie in der Lage, durch schnelles Anziehen der Hinterbeine unter den Bauch, eine sichere Landung zu praktizieren. Dies gelingt ihr auch von kleinsten Höhenunterschieden aus.

3.6.2.3 Beurteilung des Bewegungsablaufes

Wenn Ratten periphere, neurologische Störungen aufweisen, wird dies durch Veränderungen des Gangbildes deutlich. Im Extremfall entwickeln sich motorische Ausfälle, die bis zur Para- und schließlich Tetraparese führen können. Die motorischen Ausfälle treten in der Reihenfolge auf:

- Eversion der Hinterbeine
- "Watschelgang"
- Hoppelgang.

(vgl. auch Altenkirch (4)).

3.6.2.4 Klettertest

Hierbei wird die Fähigkeit der Ratte, in ihren eigenen Käfig zurückzuklettern, beobachtet.

Eine Ratte in gesundem Zustand springt mit den Hinterbeinen kräftig auf den Rand des Käfigs, balanciert eine Weile und springt in das Innere des Gehäuses zurück.

Eine Ratte mit neurologischen Ausfallserscheinungen der Hinterbeine versucht sich lediglich mit den Vorderextremitäten zum Käfigrand zu ziehen, wobei ihr ein Balancieren nicht mehr möglich ist.

3.7 Biochemische Untersuchungen

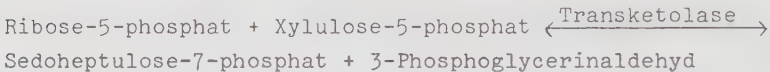
Gamma-Glutamyltransferase (GGT; EC 2.3.2.2) nach PERSIJN (109) 1976 und SZASZ (142) 1974.

Die GGT transferiert den Glutamyl-Rest von γ -Glutamyl-p-nitroanilid auf Glycylglycin. Das bei dieser Reaktion freigesetzte p-Nitroanilin ist proportional der GGT-Aktivität. Die Extinktionszunahme wird bei 405 nm gemessen.

Transketolaseaktivität

Die Transketolaseaktivität wurde nach der Methode von DREYFUSS (33), modifiziert von SHOUTEN et al. (127) bestimmt (EC 2.2.1.1).

Die Transketolase katalysiert folgende Reaktion:



Die Ausrechnung der Transketolaseaktivität erfolgte nach folgender Formel:

$$\frac{\Delta EP}{\Delta EE} \times \frac{KE}{40} \times \frac{35}{Hkt} = IE$$

- EP = Extinktionszunahme der Probelösung bei 510 bis 540 nm
EE = Extinktionszunahme der Eichlösung bei 510 bis 540 nm
KE = Konzentration der Eichlösung
40 = Inkubationszeit in Minuten
 $\frac{35}{Hkt}$ = Faktor zur Umrechnung auf den durchschnittlichen Hämatokritwert
IE = μ mol Sedoheptulose-7-phosphat/min/l

GGT- und Transketolase-Aktivitätsbestimmungen wurden jeweils vor und nach der Expositionsphase durchgeführt.

Blut wurde aus der Schwanzspitze gewonnen. Dabei wurde die Spitze des Rattenschwanzes abgeschnitten, so daß das Blut frei fließend aufgefangen werden konnte.

Die photometrischen Tests wurden mit einem Eppendorf Gerät, Typ Nr. PCP 6121, durchgeführt.

3.8 Histologische Auswertung

3.8.1 Peripheres Nervensystem

Die Auswertung der Präparate des peripheren Nervensystems fand unter der Aufsicht von PD Dr. Altenkirch im Blind-Verfahren statt.

Es wurde von allen Tieren der proximale, kniegelenksnahe und distale Anteil des N. Ischiadicus präpariert. Von jeder Region wurden stichprobenartig 3 bis 10 Gesichtsfelder unter dem Lichtmikroskop nach Axonschwellung, Axonzerfall und Oviden ausgewertet. Die absolute Anzahl der o.g. pathologisch-neurologischen Veränderungen wurde anhand einer Tabelle zusammengestellt und mit Hilfe eines Punktesystems relativiert, da die Qualität und Quantität der einzelnen Präparate sich unterschieden (Orthoplan-Mikroskop, Type Nr. 4774888 mit Zeiss-Kamera, Film Agfapan DIN 25/15).

3.8.2 Muskulatur der Hinterbeine

Es wurde die Muskulatur der Hinterbeine von 7 Tieren (Gruppe 1 = 2 Tiere, Gruppe 2 = 2 Tiere, Gruppe 3 = 1 Tier, Gruppe 4 = 2 Tiere) untersucht und nach einem Punktesystem beurteilt. Die Ergebnisse der lichtmikroskopischen Befunde wurden photomikroskopisch festgehalten und vom neuro-pathologischen Institut der Freien Universität Berlin (PD Dr. Stoltenburg) begutachtet.

3.8.3 Leber

Die Leberpräparate von 9 Tieren (Gruppe 1 = 2 Tiere, Gruppe 2 = 2 Tiere, Gruppe 3 = 1 Tier, Gruppe 4 = 1 Tier, Gruppe 5 = 1 Tier, Gruppe 6 = 2 Tiere) wurden vom pathologischen Institut der Freien Universität Berlin (Dr. Jautzke) auf ihre Veränderungen hin überprüft.

4. ERGEBNISSE

4.1 Gewichtsentwicklung während der Äthanolbelastungsphase

Es zeigte sich bei den Äthanol-gefütterten Tieren während der Vorbehandlungsphase eine deutliche Verzögerung der Gewichtszunahme im Vergleich zur Kontrollgruppe.

(Siehe graphische Darstellung Abb. 2 und Tab. 4)

Kontrollgruppe	Äthanolgruppe
n = 3	n = 9
100 %	58,45 %

Tab. 4: Durchschnittliches Gewicht der Äthanol-Gruppe am 338. Tag in Prozent zur Kontrollgruppe

4.2 Expositionsphase

4.2.1 Klinische Beobachtungen

4.2.1.1 Gewichtsentwicklung

Bei allen Tieren waren Gewichtsabnahmen während der Expositionsphase festzustellen. Eine Ausnahme machte Ratte 2 des Aceton-Kollektivs. Hier war eine leichte Gewichtszunahme zu vermerken.

Die deutlichste Gewichtsverminderung konnte in der Gruppe 1, 2 und 4 festgestellt werden, wobei Kollektiv 2 der n-Hexan exponierten Tiere am stärksten betroffen war. Ratte 2 des Äthanol-Kollektivs wies eine gruppenuntypische Gewichtsabnahme auf (siehe graphische Darstellung Abb. 3-8 und Tab. 5).

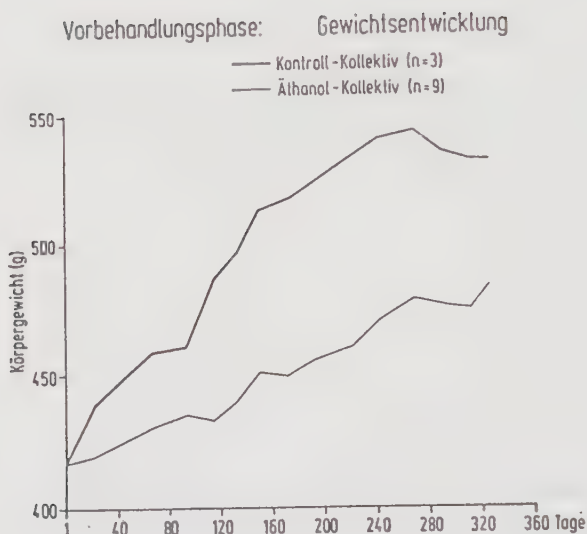


Abb.: 2 Gewichtsentwicklung in der Vorbehandlungsphase (Äthanolbelastungsphase)

Gruppe	Substanz	Tier-Nr.	Anfangs- gewicht in g	End- gewicht in g	Abweichung in %
1	n-Hexan Äthanol	1	500	425	- 15,0
		2	470	405	- 13,8
		3	510	415	- 18,6
2	n-Hexan	1	385	315	- 18,2
		2	425	310	- 27,1
		3	485	410	- 15,5
3	Äthanol	1	495	480	- 3,0
		2	450	340	- 24,4
		3	455	430	- 5,5
		4	485	460	- 5,2
4	n-Hexan/ Aceton	1	635	525	- 17,3
		2	465	390	- 16,1
		3	385	345	- 10,4
5	Aceton	1	500	480	- 4,0
		2	425	430	+ 1,2
		3	525	490	- 6,7
6	Kontrolle	1	505	465	- 7,9
		2	445	435	- 2,2
		3	485	456	- 6,0

Tab. 5: Gewichtsveränderung am Ende der Expositionsphase
in % vom Ausgangsgewicht

Gewichtsentwicklung:

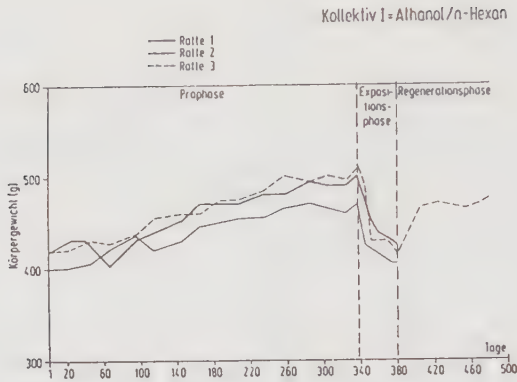


Abb.: 3 Gewichtsentwicklung Kollektiv I (Äthanol/n-Hexan)

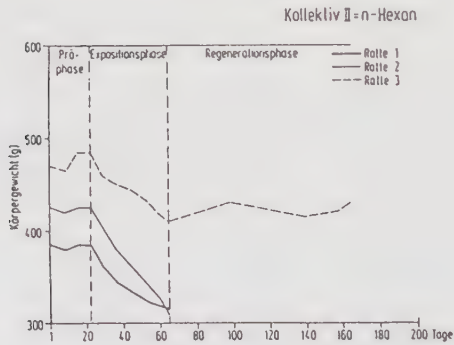


Abb.: 4 Gewichtsentwicklung Kollektiv II (n-Hexan)

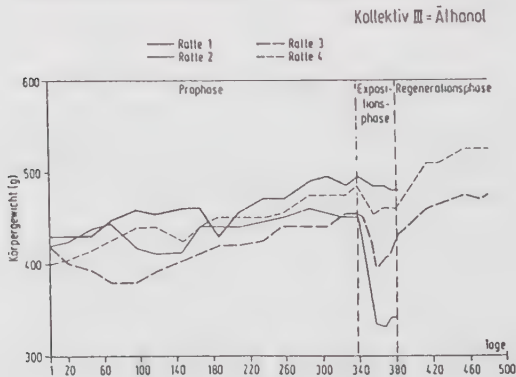


Abb.: 5 Gewichtsentwicklung Kollektiv III (Äthanol)

Gewichtsentwicklung:

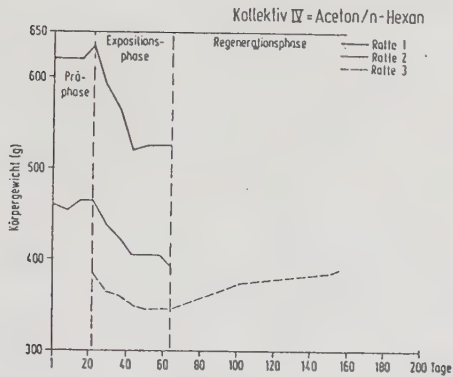


Abb.: 6 Gewichtsentwicklung Kollektiv IV (Aceton/n-Hexan)

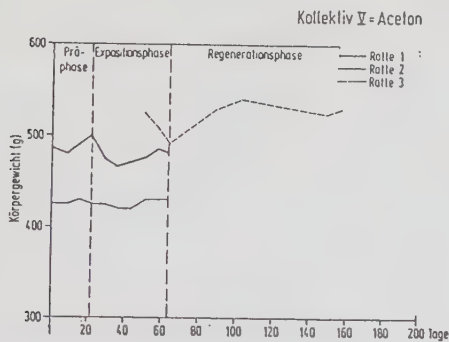


Abb.: 7 Gewichtsentwicklung Kollektiv V (Aceton)

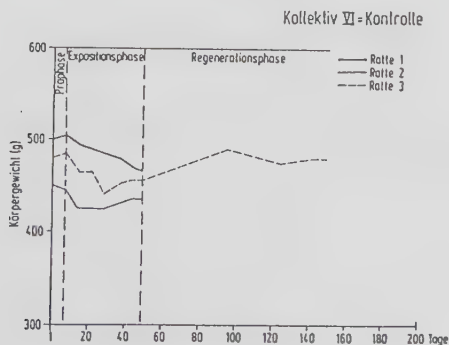


Abb.: 8 Gewichtsentwicklung Kollektiv VI (Kontrolle)

4.2.1.2 Sonstige_Auffälligkeiten

Einige Tiere zeigten eine rötliche Verfärbung des Fells, wobei die Nackenpartie besonders betroffen war. Diese Veränderungen betraf Tiere aller Versuchsgruppen und waren meist schon bei Expositionsbeginn zu beobachten.

4.2.2 Neurologische_Untersuchungen

Zur Beurteilung neurologischer Ausfälle wurden spezifische Untersuchungskriterien herangezogen, die unter Punkt 3.6.2 näher beschrieben sind.

Diese subjektiven Tests wurden wöchentlich im Blind-Verfahren durchgeführt. Die Bewertung unterlag der Aufsicht von Dr. Altenkirch (Neurologische Klinik Steglitz der Freien Universität Berlin).

Zur Dokumentation des Zustandes der Ratten wurde folgendes Punkte-Bewertungssystem eingeführt (siehe Tab. 6):

Punkt	Befund
0	kein Befund
1	leichter Befund
2	mittelschwerer Befund
3	schwerer Befund
4	sehr schwerer Befund (komplette Lähmung)

Tab. 6: Punktesystem für den Schweregrad neurologischer Störungen

4.2.2.1 Spreizreflex

Eine Beeinträchtigung des Spreizreflexes trat etwa gleichstark bei Gruppe 1 und 2 auf. Innerhalb 2 bis 4 Wochen nach Expositionsbeginn wurden leichte Schädigungen deutlich. In der 4. bzw. 5. Woche der Behandlung war eine erhebliche Verlangsamung des Spreizreflexes feststellbar, zudem kam es zu einer Verkleinerung des Winkels der Hinterbeine.

Bei den Kollektiven 3, 4 und 5 konnte lediglich eine leichte Beeinträchtigung des Spreizreflexes festgestellt werden, die in der 1. bis 5. Woche nach Expositionsbeginn auftrat (siehe Abb. 9 - 14).

4.2.2.2 Fallreflex

Hierbei fanden wir eine schwerstgradige Beeinträchtigung bei der Gruppe 2 vor, die sich nach 5 Wochen in einer kompletten Lähmung manifestierte. Ein Fallreflex wie er unter 3.6.2.2 beschrieben ist, war nicht mehr auslösbar.

Deutlich weniger stark war die Gruppe 1 betroffen, bei der es nur in einem Fall zu einer schweren Einschränkung des Fallreflexes kam. Die Gruppe 4 wies in den beiden letzten Expositionswoche mittelschwere Befunde auf, während es in den Kollektiven 3 und 5 nur zu andeutungsweise auftretenden Veränderungen kam (siehe Abb. 15 - 20).

4.2.2.3 Beurteilung des Bewegungsablaufes

Aufgrund der in 4.2.2.2 erwähnten kompletten Lähmung der Hinterläufe, konnten sich die Tiere der Gruppe 2 mit einer Ausnahme nur noch mit den vorderen Extremitäten vorwärts bewegen.

Deutlich besser dagegen schnitt das Kollektiv 1 ab, bei dem mittelschwere Gangunsicherheiten, meist in Form einer Verlangsamung des Bewegungsablaufes festzustellen war.

Bei der Gruppe 3, 4 und 5 traten, wie bei der Prüfung der anderen neurologischen Qualitäten geringere Befunde auf (siehe Abb. 21 - 26).

Expositions- und Regenerationsphase: Spreizreflex

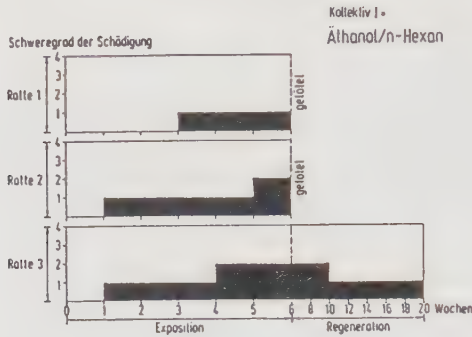


Abb.: 9 Spreizreflex Kollektiv I (Äthanol/n-Hexan)

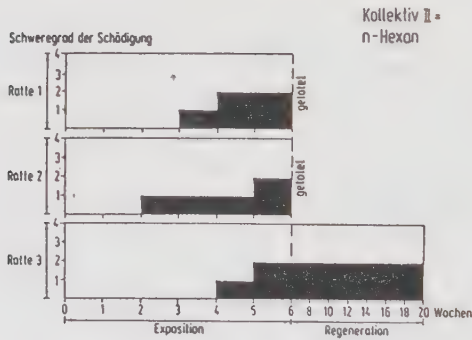


Abb.: 10 Spreizreflex Kollektiv II (n-Hexan)

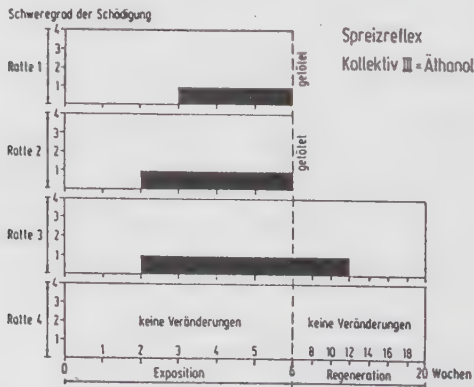


Abb.: 11 Spreizreflex Kollektiv III (Äthanol)

Expositions- und Regenerationsphase: Spreizreflex

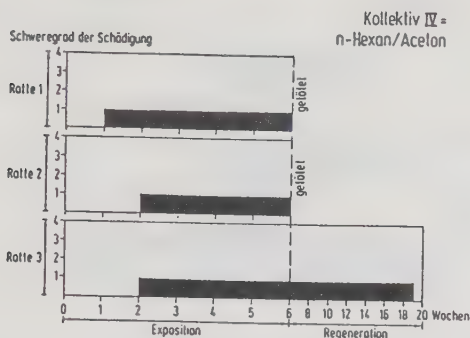


Abb.: 12 Spreizreflex Kollektiv IV (n-Hexan/Aceton)

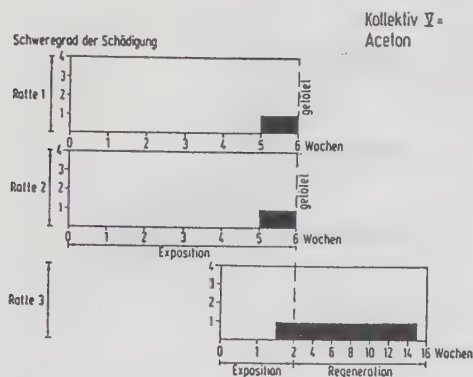


Abb.: 13 Spreizreflex Kollektiv V (Aceton)

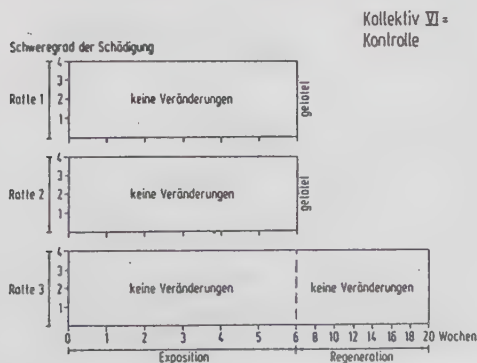


Abb.: 14 Spreizreflex Kollektiv VI (Kontrolle)

Expositions- und Regenerationsphase: Fallreflex

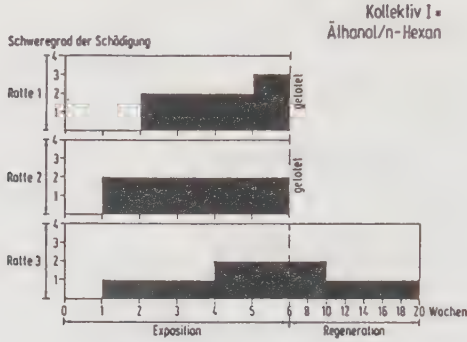


Abb.: 15 Fallreflex Kollektiv I (Äthanol/n-Hexan)

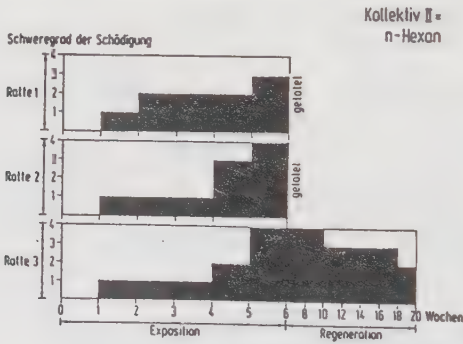


Abb.: 16 Fallreflex Kollektiv II (n-Hexan)

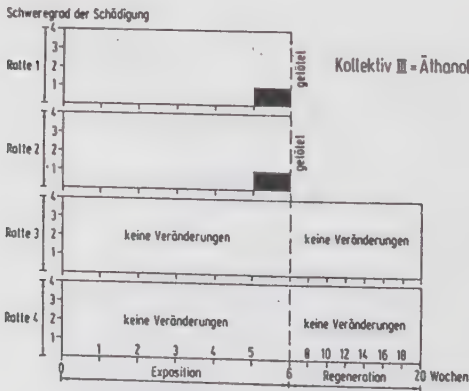


Abb.: 17 Fallreflex Kollektiv III (Äthanol)

Expositions- und Regenerationsphase: Fallreflex

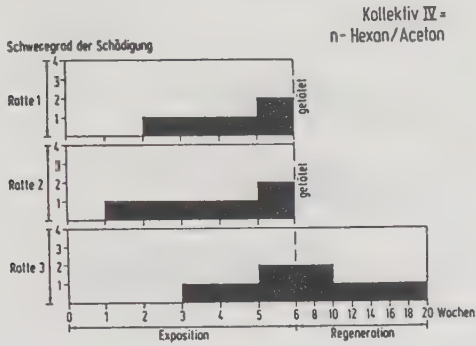


Abb.: 18 Fallreflex Kollektiv IV (n-Hexan/Aceton)

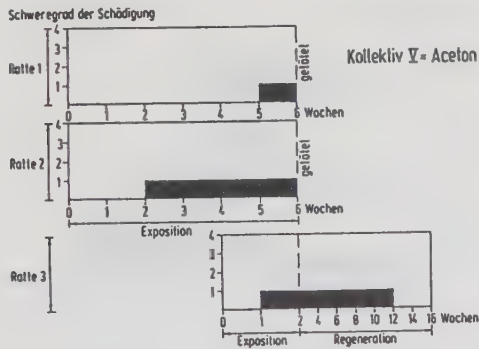


Abb.: 19 Fallreflex Kollektiv V (Aceton)

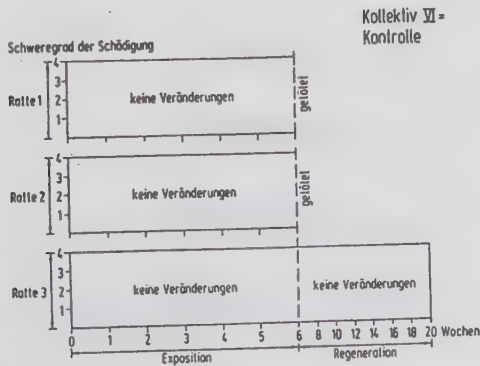


Abb.: 20 Fallreflex Kollektiv VI (Kontrolle)

Expositions- u. Regenerationsphase: Beurteilung d. Bewegungsablaufes

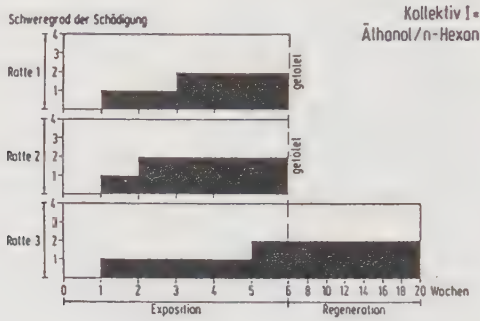


Abb.: 21 Beurteilung des Bewegungsablaufes Kollektiv I (Äthanol/n-Hexan)

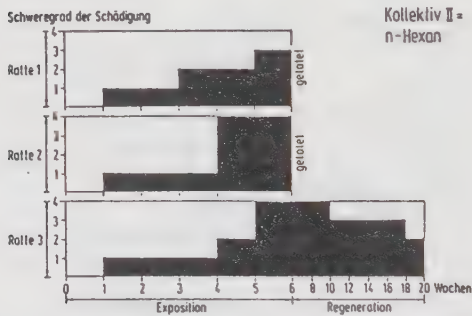


Abb.: 22 Beurteilung des Bewegungsablaufes Kollektiv II (n-Hexan)

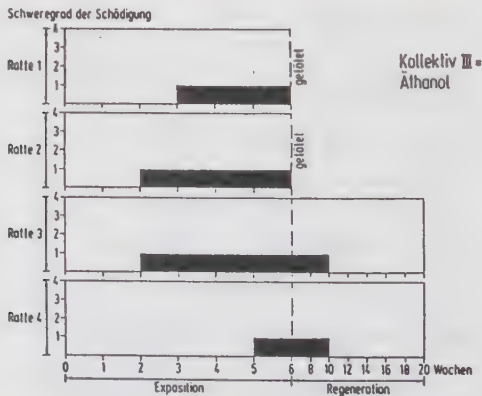


Abb.: 23 Beurteilung des Bewegungsablaufes Kollektiv III (Äthanol)

Expositions- u. Regenerationsphase: Beurteilung d. Bewegungsablaufes

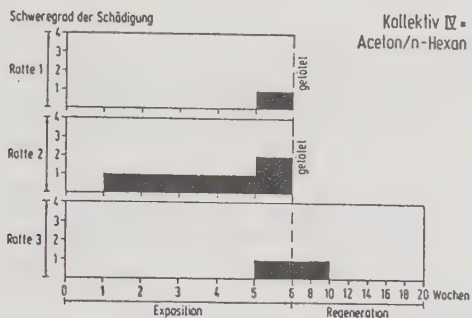


Abb.: 24 Beurteilung des Bewegungsablaufes Kollektiv IV (Aceton/n-Hexan)

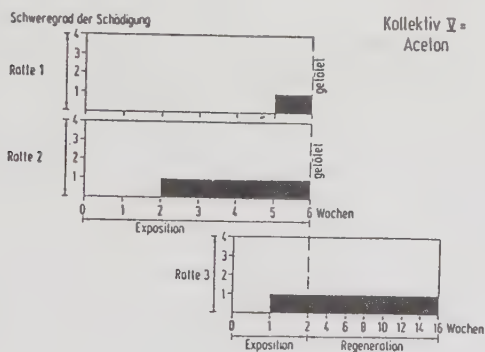


Abb.: 25 Beurteilung des Bewegungsablaufes Kollektiv V (Aceton)

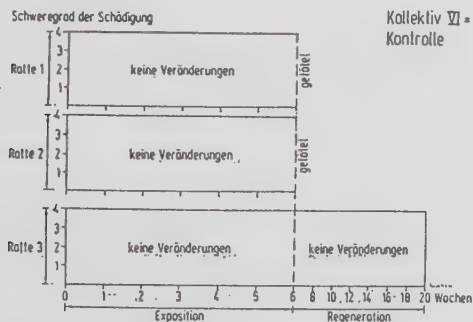


Abb.: 26 Beurteilung des Bewegungsablaufes Kollektiv VI (Kontrolle)

4.2.2.4 Klettertest

Die Fähigkeit der Ratte, in ihren Käfig zurückzuklettern, wird mit + gekennzeichnet, ein Mißlingen dieser Aktion mit - (siehe Tab. 7).

Gruppe	Substanz	Tier-Nr.	Expositionswoche					
			1	2	3	4	5	6
1	Äthanol n-Hexan	1	+	+	+	+	+	+
		2	+	+	+	+	+	+
		3	+	+	+	+	+	+
2	n-Hexan	1	+	+	+	+	+	-
		2	+	+	-	-	-	-
		3	+	+	+	+	+	-
3	Äthanol	1	+	+	+	+	+	+
		2	+	+	+	+	+	+
		3	+	+	+	+	+	+
		4	+	+	+	+	+	+
4	Aceton n-Hexan	1	+	+	+	+	+	+
		2	+	+	+	+	+	+
		3	+	+	+	+	+	+
5	Aceton	1	+	+	+	+	+	+
		2	+	+	+	+	+	+
		3	./.	./.	./.	./.	+	+
6	Kontrolle	1	+	+	+	+	+	+
		2	+	+	+	+	+	+
		3	+	+	+	+	+	+

./. = Tier 3 der Aceton-Gruppe wurde nur 2 Wochen einer Acetonexposition unterzogen

Tab. 7: Klettertest

Bereits 3 Wochen nach Expositionsbeginn ist ein Tier der Gruppe 2 nicht in der Lage, den in 3.6.2.4 beschriebenen Klettertest zu bestehen. In der letzten Expositionswoche sind alle Tiere dieser Gruppe zu schwach, um in ihren Käfig zurückzuklettern.

Alle Tiere der anderen Gruppen bestehen diesen Test.

4.2.3 Ergebnisse der biochemischen Untersuchungen

4.2.3.1 Transketolaseaktivitätsbestimmung im Blut

Die Transketolaseaktivität im Blut zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen Äthanol-vorbehandelten Tieren (Gruppe 1 und 3) und der Vergleichsgruppe.

Die Werte nach Expositionsende differierten unter den Gruppen ebenfalls nur unwesentlich.

Gruppe	Substanz	Tier-Nr.	Transketolaseaktivität in μ mol/min/l	
			Expos.-beginn	Expos.-ende
1	Äthanol	1	24,67	23,13
		2	23,71	20,11
		3	23,72	23,60
2	n-Hexan	1	33,05	27,55
		2	26,60	31,43
		3	24,95	25,55
3	Äthanol	1	24,32	28,40
		2	23,51	24,09
		3	26,47	26,00
		4	24,85	25,71
4	Aceton	1	27,39	24,57
		2	22,57	22,03
		3	24,26	24,54
5	Aceton	1	26,37	29,28
		2	23,43	23,84
		3	25,42	25,10
6	Kontrolle	1	26,21	23,28
		2	20,28	26,09
		3	25,81	24,47

Tab. 8: Transketolaseaktivität im Blut vor Expositionsbeginn und nach Expositionsende

4.2.3.2 Gamma-Glutamyltransferase-Bestimmung (GGT) im Serum

Die GGT im Serum zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen Äthanol-vorbehandelten Tieren (Gruppe 1 und 3) und den Kontrolltieren (Gruppe 6)

Auch nach Expositionsende konnten keine erheblichen Differenzen festgestellt werden.

Gruppe	Substanz	Tier-Nr.	GGT-Aktivität in μ mol/min/l	
			Expos.-beginn	Expos.-ende
1	Äthanol n-Hexan	1	0,6	1,1
		2	0,1	0,6
		3	0,1	0,5
2	n-Hexan	1	0,1	0,1
		2	0,4	0,8
		3	0,6	0,7
3	Äthanol	1	0,9	0,9
		2	0,2	0,4
		3	0,2	0,4
		4	1,0	0,6
4	Aceton/ n-Hexan	1	1,9	0,6
		2	0,6	0,5
		3	0,2	0,8
5	Aceton	1	1,6	0,7
		2	0,3	0,2
		3	0,5	0,1
6	Kontrolle	1	0,6	0,8
		2	0,6	0,3
		3	0,5	0,2

Tab. 9: Gamma-Glutamyltransferase-Aktivität im Serum

4.2.4 Lichtmikroskopische Befunde

4.2.4.1 Peripheres Nervensystem

Wie bereits in anderen Arbeiten (6, 89, 122, 132, 140, 145) beschrieben, fanden wir auch bei unseren Experimenten die typischen lichtmikroskopischen Zeichen der Axondegeneration (Axoplasmaverdichtungen, Axonaufreibungen, Myelinscheidenverdünnungen), die als frühe Zeichen einer Nervenläsion gewertet werden können (132). Ebenso konnten wir spätere Stadien mit Zerstörung der axonalen- und Myelinstrukturen, zu denen auch die Ovoide gerechnet werden (132), beobachten.

Gruppe	Substanz	Tier-Nr.	Expos.-dauer	Axonschw. (Pkte) +	Axonzerf. (Pkte) +	Ovoide (Pkte) +	Gesamtbewertung (Pkte)
1	Äthanol n-Hexan	1	43	1,5	1,1	0,9	1,2
		2	43	1,3	0,7	1,7	1,2
2	n-Hexan	1	43	1,3	1,1	0,9	1,1
		2	43	2,7	2,1	1,9	2,2
3	Äthanol	1	43	1,0	0,9	0,8	0,9
		2	43	1,0	0,7	0,9	0,9
4	Aceton n-Hexan	1	43	1,5	0,9	1,6	1,3
		2	43	1,1	0,9	0,3	0,8
5	Aceton	1	43	1,0	0,4	1,4	0,9
		2	43	1,0	0,5	0,9	0,8
6	Kontrolle	1	43	0,2	0,2	0,2	0,2
		2	43	0,0	0,0	0,0	0,0

0 Punkte = keine pathologischen Veränderungen

1 Punkt = leichte pathologische Veränderung

2 Punkte = mittelmäßige pathologische Veränderung

3 Punkte = starke pathologische Veränderung

+ = Durchschnittswert

Gesamtbewertung = Axonschwellung + Axonzerfall + Ovoide
(Punkte) (Punkte) (Punkte)

Tab. 10: Bewertung der lichtmikroskopischen Befunde nach Axonschwellung, Axonzerfall und Ovoiden

Abb. 27: Längsschnitt des distalen Abschnitts des N. Ischiadicus, Semidünnschnitt. Ein Axon ist zerstört, in einer paranodalen Myelinscheide ist das Myelin geschwollen (Äthanol/n-Hexan-Gruppe)
- Expositionsphase -

Abb. 28: Längsschnitt des proximalen Abschnitts des N. Ischiadicus, Semidünnschnitt. Ovoidbildung entlang eines Axonverlaufs (Äthanol/n-Hexan-Gruppe)
- Expositionsphase -

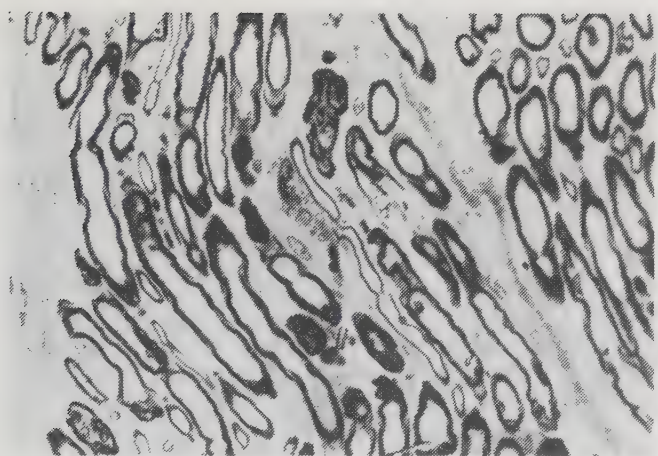


Abb. 27

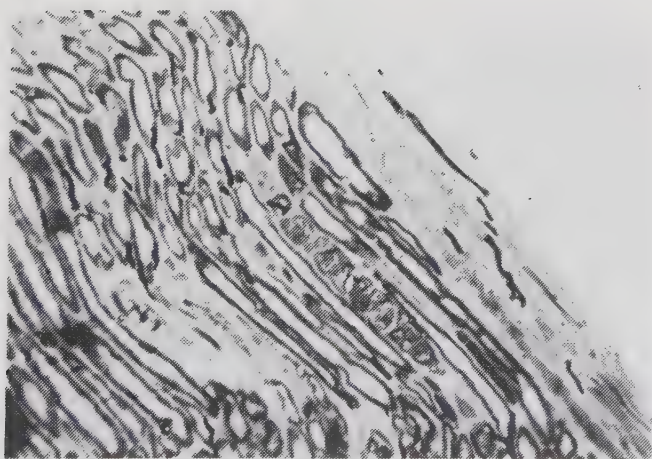


Abb. 28

Abb. 29: Längsschnitt des distalen Abschnitts des N.
Ischiadicus, Semidünnschnitt. Paranodale Auf-
treibung des Axons (Aceton-Gruppe)
- Expositionsphase -

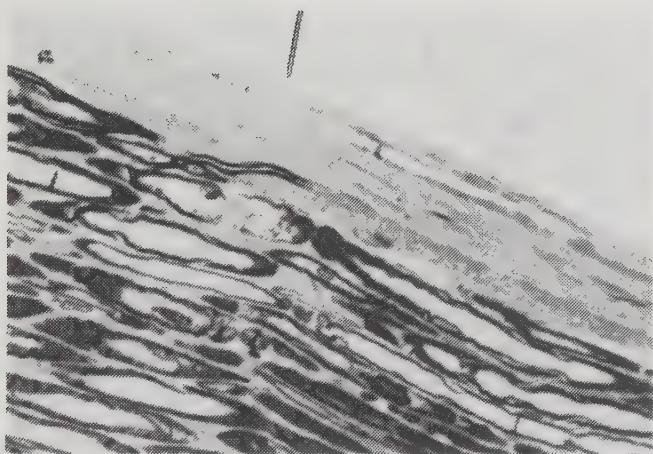


Abb. 29

Am stärksten waren die Tiere der n-Hexan-Gruppe betroffen (1,1/2,2 Punkte). Es folgten mit Abstand die Gruppen 1 (1,2/1,2 Punkte), 4 (1,3/0,8 Punkte), 3 (0,9/0,9 Punkte) und 5 (0,8/0,9 Punkte).

Die Kontrollgruppe war nur unwesentlich von pathologischen Veränderungen beeinträchtigt (siehe Abb. 27 - 29)

4.2.4.2 Muskulatur

Von den Tieren, die nach der Expositionsphase getötet wurden, zeigten die Kollektive 1, 3 und 4 die geringsten Schäden im Bereich der Beinmuskulatur. Es waren Einzelfaseratrophien mit zum Teil zentralen Kernen sichtbar. Der Verdacht auf Einzelfasernekrosen wurde bei Besichtigung des Präparates der Ratte von Gruppe IV geäußert.

Bedeutend schwerwiegendere Schäden konnten bei dem n-Hexan voll'exponierten Tier beobachtet werden. Das Spektrum der morphologischen Veränderungen reichte von gruppenförmigen Atrophien über zahlreiche zentrale Muskelfaserkerne bis zu runden Muskelfasern (siehe Abb. 30 - 35).

Gruppe	Substanz	Tier-Nr.	Expos.-dauer Tage	Schweregrad der Schädigung, Punkte
1	Äthanol n-Hexan	1	43	1
2	n-Hexan	2	43	3
3	Äthanol	1	43	0 - 1
4	Aceton n-Hexan	1	43	1 - 2

Punkte 0 = keine path. Veränderungen

1 = leichte path. Veränderungen

2 = mittelmäßige path. Veränderungen

3 = starke path. Veränderungen

Tab. 11: Lichtmikroskopische Untersuchung der Hinterbein-
muskulatur

Abb. 30: Oberschenkelmuskulatur im Querschnitt, Gefrierschnitt. Der Muskel ist nur gering auffällig. Die Faserkalibervariation ist mittelgradig ausgeprägt, einzelne Fasern sind atrophiert (Äthanol/n-Hexan-Gruppe)

- Expositionsphase -

Abb. 31: Unterschenkelmuskulatur im Querschnitt, Gefrierschnitt. Im Vergleich zu den n-Hexan-exponierten Tieren ist die Muskulatur deutlich geringer pathologisch verändert. Einzelfaseratrophien, die sich zu kleinen gruppenförmigen Atrophien ordnen, zeigen die neurogene Schädigung an. Es findet sich kein Hinweis für eine myotoxische Wirkung des Gemisches (Äthanol/n-Hexan-Gruppe)

- Expositionsphase -

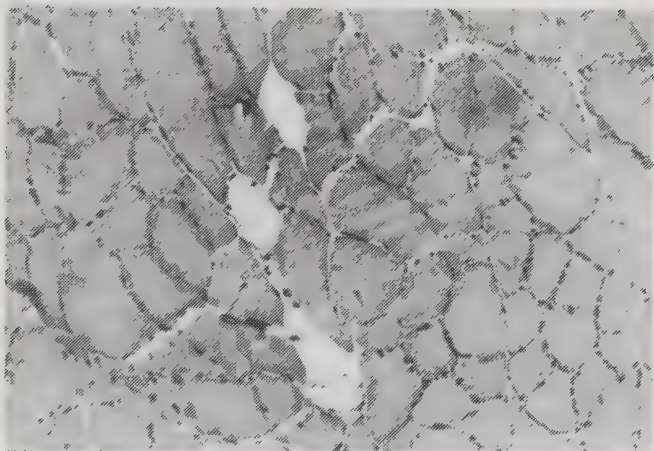


Abb. 30

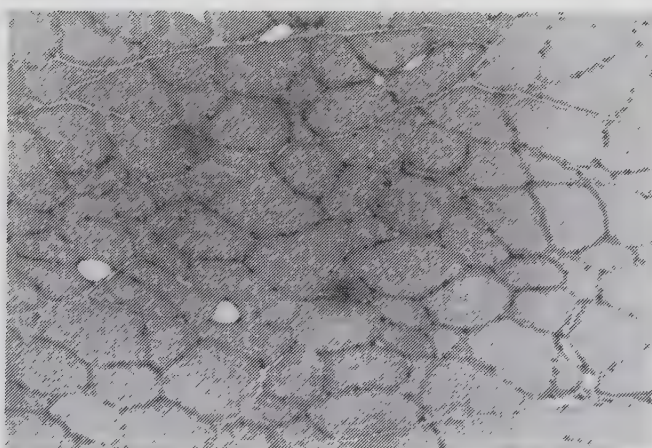


Abb. 31

Abb. 32: Oberschenkelmuskulatur im Querschnitt, Gefrierschnitt. Der Muskel zeigt Einzelfasernekrosen und gruppenförmig angeordnete Atrophien sowie Faserabrundung (n-Hexan-Gruppe)
- Expositionsphase -

Abb. 33: Unterschenkelmuskulatur im Querschnitt, Gefrierschnitt. Der Unterschenkel zeigt eine deutliche neurogene Schädigung mit gruppenförmigen Atrophien und Hypertrophien (n-Hexan-Gruppe)
- Expositionsphase -

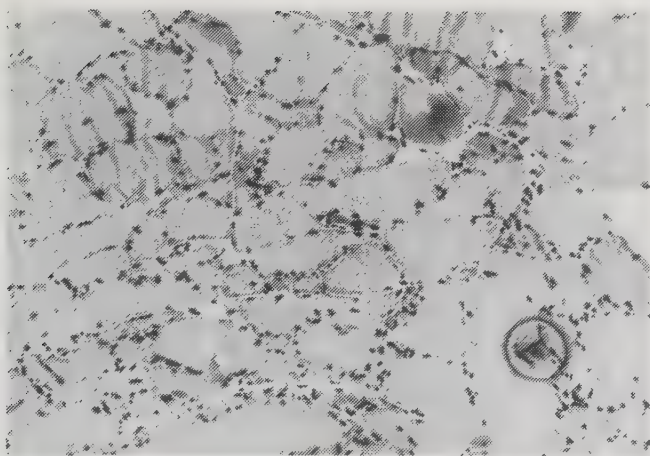


Abb. 32

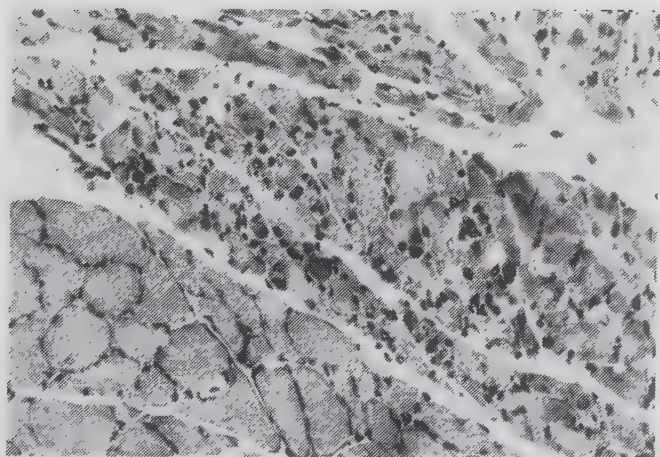


Abb. 33

Abb. 34: Muskel im Querschnitt, Oberschenkel, Kryostat-
schnitt, Färbung HE. Polygonaler Querschnitt,
randständige Kerne, geringe Variabilität der
Durchmesser (Normalbefund, Äthanol-Gruppe)
- Expositionsphase -

Abb. 35: Muskel im Querschnitt, Gefrierschnitt, geringe
myopathische Veränderungen von Einzelfasern
mit zentralen Kernen. Erhöhte Variabilität der
Durchmesser, Auftreten von kleinen angulierten
Fasern (Aceton/n-Hexan-Gruppe)
- Expositionsphase -

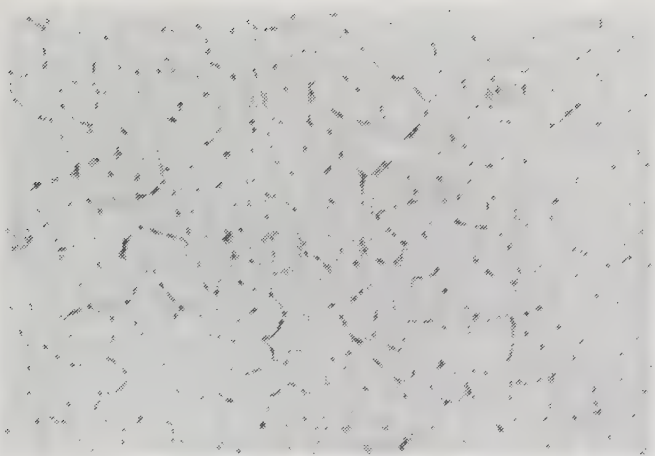


Abb. 34

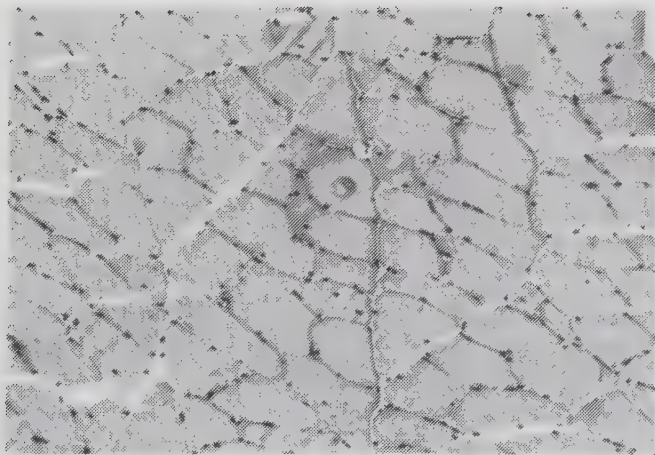


Abb. 35

4.2.4.3 Leber

Bei allen Leberpräparaten von Tieren nach der Expositionsphase konnten weder entzündliche, fibrotische noch zirrhotische Veränderungen festgestellt werden.

Bei einigen Tieren wurde eine leichte Verfettung nachgewiesen, diese geringgradige Leberverfettung bestand jedoch bei einem Äthanol gefütterten Tier ebenso wie bei Ratten der n-Hexan-, Aceton/n-Hexan und Kontrollgruppe.

Gruppe	Substanz	Tier-Nr.	Expos.-dauer Tage	Pathol. Veränderungen Verfett. Entz. Fibr. Zirrh.
1	Äthanol/ n-Hexan	1	43	- - - -
		2	43	- - - -
2	n-Hexan	1	43	+ - - -
		2	43	- - - -
3	Äthanol	1	43	+ - - -
4	Aceton/ n-Hexan	1	43	+ - - -
5	Aceton	1	43	- - - -
6	Kontrolle	1	43	- - - -
		2	43	+ - - -

Zeichenerklärung: - = keine pathologischen Veränderungen
 + = leichte pathologische Veränderungen
 ++ = mittelgradige pathologische Veränderungen
 +++ = starke pathologische Veränderungen

Tab. 12: Lichtmikroskopische Beurteilung der Leber

4.3 Regenerationsphase

4.3.1 Klinische Beobachtungen

4.3.1.1 Gewichtsentwicklung während der Regenerationsphase

Bei allen Kollektiven waren in der Regenerationsphase Gewichtszunahmen zu verzeichnen.

Ein deutlich geringerer Zuwachs mit 4,9 % des Ausgangsgewichtes war bei der Ratte der n-Hexan-Gruppe zu beobachten.

Die geringe Gewichtszunahme von 5,9 % des Tieres von Kollektiv 6 läßt sich aus dem nur unbedeutenden Gewichtsverlust während der Expositionsphase erklären.

Bei Tier 3 der Gruppe 5 muß die kurze Expositionsdauer von nur 13 Tagen berücksichtigt werden.

Gruppe	Substanz	Tier-Nr.	Expo-dauer (Tage)	Reg.-dauer (Tage)	Gewicht Anf. d. Reg.-ph. (Gramm)	Gewicht Ende d. Reg.-ph. (Gramm)	Abweichung in % vom Ausgangsgew.
1	Äthanol/ n-Hexan	3	43	100	415	475	+ 14,5
2	n-Hexan	3	43	100	410	430	+ 4,9
3	Äthanol	3	43	100	430	475	+ 10,5
		4	43	100	460	525	+ 14,1
4	Aceton/ n-Hexan	3	43	93	345	390	+ 13,0
5	Aceton	3	13	93	490	530	+ 8,2
6	Kontrolle	3	43	100	456	480	+ 5,3

Tab. 13: Gewichtsveränderung am Ende der Regenerationsphase in % vom Ausgangsgewicht

4.3.2 Neurologische Untersuchungen

Diese Untersuchungen wurden ähnlich wie bei der Expositionsphase in regelmäßigen Abständen durchgeführt und bewertet (siehe 4.2.2).

4.3.2.1 Spreizreflex

Alle Tiere, mit Ausnahme des Kollektivs 2, konnten sich von einer aufgetretenen Beeinträchtigung des Spreizreflexes während der Exposition in der Regenerationsphase erholen.

Bei Kollektiv 1 bestand am Ende der Regenerationsphase nur noch eine leichte Schädigung.

Kollektiv 3, 4 und 5 konnte sich von einer leichten Beeinträchtigung des Spreizreflexes vollständig erholen.

Die Ratte der n-Hexan-Gruppe zeigte auch am Ende der Regenerationsphase eine mittelgradige Schädigung bei der Prüfung des Spreizreflexes.

Keine Veränderung war bei der Kontrollgruppe zu beobachten.

4.3.2.2 Fallreflex

Die schwerstgradigen Veränderungen der Ratte des Kollektivs 2, die am Ende der Expositionszeit zu einer kompletten Lähmung führte, bildete sich teilweise zurück. Bereits nach 4 Wochen in der Erholungszeit konnte ein Fallreflex wieder ansatzweise ausgelöst werden. 2 Wochen vor Beendigung der Regenerationsphase war noch eine mittelgradige Schädigung festzustellen.

Bei Gruppe 1 und 4 waren nach 4 Wochen Erholungszeit nur noch leichte Schäden sichtbar, die bis zum Ende beibehalten wurden.

Die Beeinträchtigung des Fallreflexes in Gruppe 5 bildete sich vollständig zurück.

Keine Schäden zeigten sich in Kollektiv 3 und 6.

4.3.2.3 Beurteilung des Bewegungsablaufes

Eine deutliche Besserung des Bewegungsablaufes war bei Kollektiv 2 bereits nach 4 Wochen Erholungszeit festzustellen. 2 Wochen vor Beendigung der Regenerationsphase bestand nur noch eine mittelgradige Schädigung in Form eines verlangsamten Watschelganges.

Dagegen war die bei Exposition eingetretene mittelgradige Beeinträchtigung des Bewegungsablaufes bei Kollektiv 1 auch am Ende der Regenerationsphase zu beobachten.

Die leichtgradigen Veränderungen der Acetongruppe manifestierten sich auch in der Erholungsphase.

Dagegen konnte eine vollständige Wiederherstellung des Bewegungsablaufes bei Kollektiv 3 und 4 konstatiert werden.

Keine Veränderungen zeigte die Kontrollgruppe.

4.3.2.4 Klettertest

Es fällt auf, daß sich die Ratte der Gruppe 2 nicht so weit erholen konnte, um den Klettertest in der Erholungsphase zu bestehen.

Die Tiere der anderen Gruppen absolvierten die Übung wie auch bereits während der Expositionsphase mit Erfolg (siehe Tab. 14).

Gruppe	Substanz	Tier-Nr.	Regenerationsphase in Wochen														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	Äthanol/ n-Hexan	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
2	n-Hexan	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3	Äthanol	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
4	Aceton/ n-Hexan	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
5	Aceton	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
6	Kontrolle	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Tab. 14: Klettertest

4.3.3 Ergebnisse der biochemischen Untersuchungen nach der Regenerationsphase

4.3.3.1 Transketolaseaktivitätsbestimmung im Blut

Gruppe	Substanz	Tier-Nr.	Transketolaseaktivität in μ mol/min/l		
			Expos.- ende	Regener.- ende	Abweichung in %
1	Äthanol/ n-Hexan	3	23,60	29,61	+ 25,5
2	n-Hexan	3	25,55	34,40	+ 34,6
3	Äthanol	3	26,00	30,67	+ 18,0
		4	25,71	31,74	+ 23,5
4	Aceton/ n-Hexan	3	24,54	31,28	+ 27,5
5	Aceton	3	25,10	25,46	+ 1,4
6	Kontrolle	3	24,47	30,12	+ 23,1

Tab. 15: Transketolaseaktivität im Blut nach Beendigung der Regenerationsphase

Auffallend waren die in allen Gruppen erhöhten Transketolaseaktivitäten nach Regenerationsende im Vergleich zu den Werten bei Expositionsende. Das Tier des Kollektivs 5 zeigt eine Untypische Transketolaseaktivitätserhöhung von nur 1,4 %.

4.3.3.2 Gamma-Glutamyl-Transferase-Bestimmung (GGT) im Serum

Gruppe	Substanz	Tier-Nr.	GGT-Aktivität in μ mol/min/l Expositions- Ende	Regenerations- Ende
1	Äthanol/ n-Hexan	3	0,5	0,9
2	n-Hexan	3	0,7	0,3
3	Äthanol	3 4	0,4 0,6	0,7 1,1
4	Aceton/ n-Hexan	3	0,8	1,0
5	Aceton	3	0,1	0,2
6	Kontrolle	3	0,2	0,6

Tab. 16: GGT-Aktivität im Serum nach Beendigung der Regenerationsphase

Nach Regenerationsende waren keine signifikanten Unterschiede in der GGT-Aktivität zu erkennen.

4.3.4 Lichtmikroskopische Befunde

4.3.4.1 Peripheres Nervensystem

Gruppe	Substanz	Tier-Nr.	Regen.- dauer (Tage)	Axon- schw. (Pkte)	Axon- zerf. (Pkte)	Ovoide (Pkte)	Gesamtbewertung (Pkte)
1	Äthanol/ n-Hexan	3	100	2,3	2,4	3,0	2,6
2	n-Hexan	3	100	1,1	1,3	3,0	1,8
3	Äthanol	3	100	0,2	0,0	0,2	0,1
		4	100	0,3	0,0	0,3	0,2
4	Aceton/ n-Hexan	3	93	1,4	1,1	1,4	1,3
5	Aceton	3	93	0,6	0,6	2,2	1,1
6	Kontrolle	3	100	0,6	0,9	1,5	1,0

0 Punkte = keine pathologischen Veränderungen

1 Punkt = leichte pathologische Veränderungen

2 Punkte = mittelgradige pathologische Veränderungen

3 Punkte = starke pathologische Veränderungen

+ = Durchschnittswerte

Gesamtbewertung = $\frac{\text{Axonschwellung (Punkte)} + \text{Axonzerfall (Punkte)} + \text{Ovoide (Punkte)}}{3}$

Tab. 17: Bewertung der lichtmikroskopischen Befunde nach Axonschwellung, Axonzerfall und Ovoiden

Abb. 36: Längsschnitt des proximalen Abschnitts des N. Ischiadicus, Semidünnschnitt. Geringfügige Schädigung in Form einer paranodalen Anschwellung eines Axons (Äthanol/n-Hexan-Gruppe)
- Regenerationsphase -

Abb. 37: Längsschnitt des proximalen Abschnitts des N. Ischiadicus, Semidünnschnitt. Zerfall eines myelinisierten Axons nach Art der Wallerschen Degeneration, benachbarte Axone sind intakt (Äthanol/n-Hexan-Gruppe)
- Regenerationsphase -

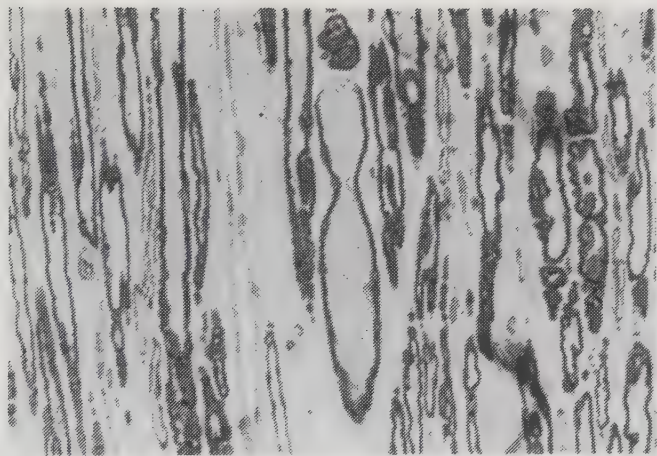


Abb. 36

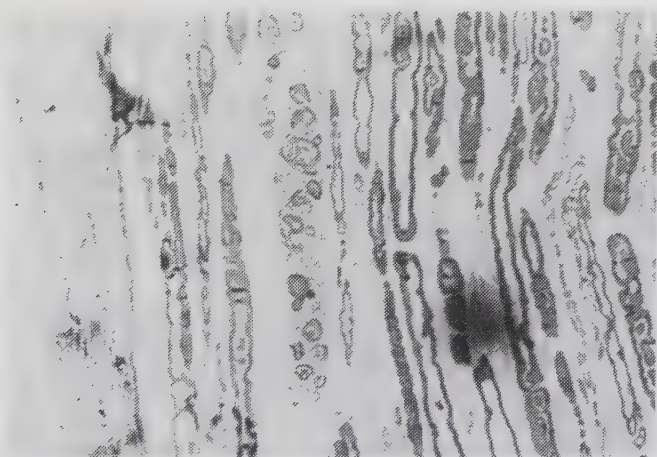


Abb. 37

Abb. 38: Längsschnitt des distalen Abschnitts des N. Ischiadicus, Semidünnschnitt.

Nach 43 tägiger n-Hexan Exposition und nachfolgender 100 tägiger Regenerationszeit zeigt der distale Abschnitt des N. Ischiadicus eine hochgradige Lichtung der großkalibrigen myelinisierten Axone sowie eine Persistenz der Myelinovoide.

Abb. 39: Längsschnitt des distalen Abschnitts des N. Ischiadicus, Semidünnschnitt.

Aufsplitterung der Myelinscheide von großkalibrigen myelinisierten Axonen in der Umgebung eines Ranvier'schen Schnürrings (Aceton-Gruppe)

- Regenerationsphase -

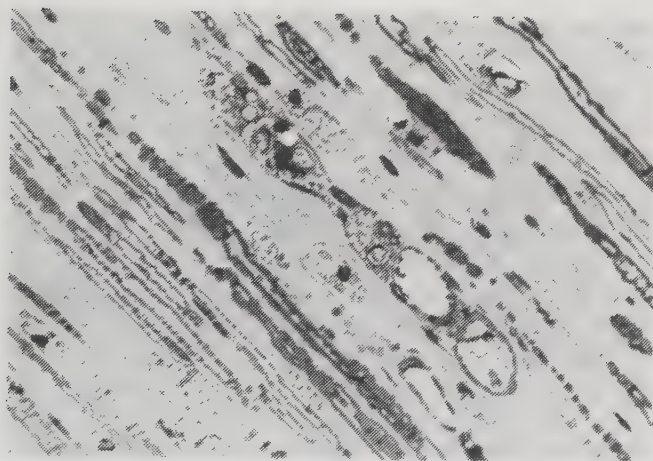


Abb. 38



Abb. 39

Die stärksten lichtmikroskopisch feststellbaren Schäden im Bereich des N. ischiadicus waren bei dem Tier der Gruppe 1 zu sehen (2,6 Punkte). Auch bei der Ratte des Kollektivs 2 waren starke Veränderungen zu beobachten (1,8 Punkte) (siehe Abb. 36 - 39).

Leichtere Schäden manifestierten sich bei den Tieren der übrigen Kollektive 4 (1,3 Punkte), 5 (1,1 Punkte), 6 (1,0 Punkte) und 3 (0,1/0,2 Punkte).

Auffallend ist die leichte bis mittelgradige Veränderung bei der Kontrollgruppe.

4.3.4.2 Muskulatur

Von den nach der Regenerationsphase getöteten Tieren zeigte die Ratte der n-Hexan-Gruppe die stärksten pathologischen Merkmale mit gruppenförmig angeordneten Atrophien, teilweise hypertrophierten Fasern, runden Zellen und oft zentral gelegenen Faserkernen (siehe Abb. 40 - 45).

Etwas weniger beeinträchtigt erschien die Muskulatur des n-Hexan/Äthanol exponierten Tieres zu sein, obwohl auch hier mäßige bis stärkere Schäden sichtbar waren.

Der untersuchte Muskel des Aceton/n-Hexan exponierten Tieres ließ leichte bis mittelgradige pathologische Veränderungen erkennen.

Bei den Kollektiven 1 und 2 erschienen die Muskelpartie des Unterschenkels stärker betroffen als der Oberschenkelbereich.

Gruppe	Substanz	Tier-Nr.	Expos.-dauer Tage	Schweregrad der Schädigung Punkte
1	Athanol/ n-Hexan	3	43	Oberschenkel 2 Unterschenkel 2 - 3
2	n-Hexan	3	43	2 - 3 3
4	Aceton/ n-Hexan	3	43	1 - 2 1 - 2

Tab. 18: Lichtmikroskopische Untersuchung der Hinterbeinmuskulatur

Abb. 40: Unterschenkelmuskulatur im Querschnitt, Gefrierschnitt (n-Hexan-Gruppe) - Regenerationsphase -

Abb. 41: Unterschenkelmuskulatur im Querschnitt, Gefrierschnitt (Äthanol/n-Hexan-Gruppe) - Regenerationsphase -

Die neurogenen Atrophien mit Gruppen von denervierten und innervierten Fasern ist in der Kombinationsgruppe deutlicher zu erkennen, da hier die von n-Hexan allein erzeugten myopathischen und myotoxischen Effekte mit Einzelfasernekrosen und - degeneration weitgehend fehlen.

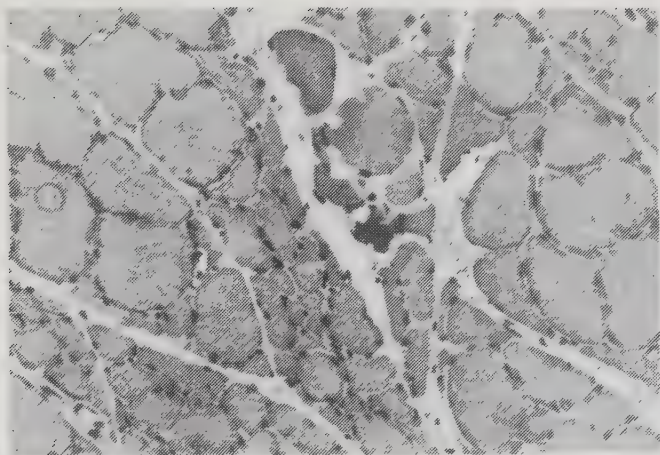


Abb. 40

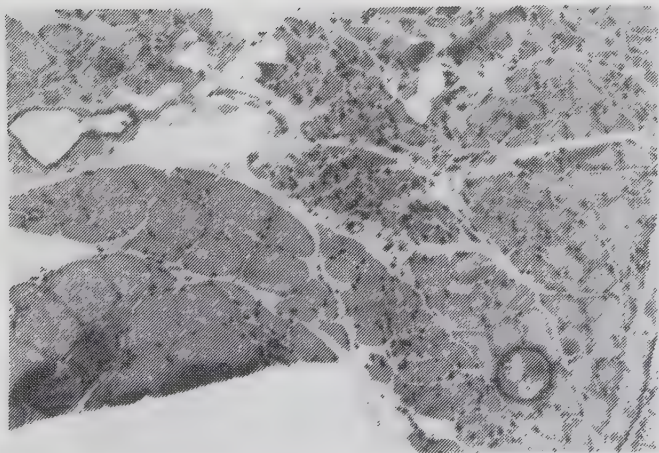


Abb. 41

Abb. 42: Oberschenkelmuskulatur im Querschnitt, Gefrierschnitt (n-Hexan-Gruppe) - Regenerationsphase -

Abb. 43: Oberschenkelmuskulatur im Querschnitt, Gefrierschnitt (Äthanol/n-Hexan-Gruppe) - Regenerationsphase -

In der Kombinationsgruppe ist der Muskel deutlich geringer geschädigt als bei alleiniger n-Hexan-Exposition, die neben neurogenen Läsionen mit Atrophien auch zu myopathischen Veränderungen mit Faserabrundung, Zentralverlagerung der Kerne und Einzelfasernekrosen führt.

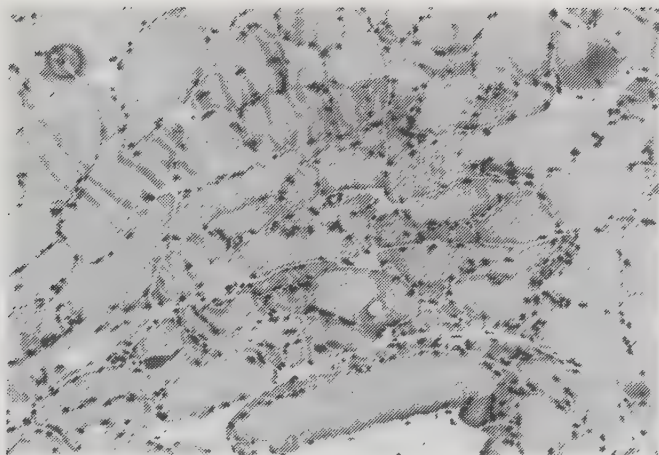


Abb. 42

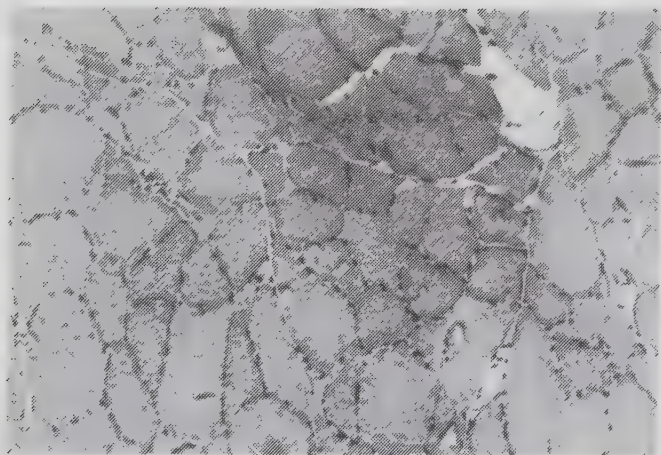


Abb. 43

Abb. 44: Oberschenkelmuskulatur im Querschnitt, Gefrierschnitt (Aceton/n-Hexan-Gruppe) - Regenerationsphase -
Die Muskelfasern zeigen eine erhöhte Variabilität der Faserdurchmesser. Einzelne Fasern erscheinen atrophiert.

Abb. 45: Unterschenkelmuskulatur im Querschnitt, Gefrierschnitt (Aceton/n-Hexan-Gruppe) - Regenerationsphase -
Einzelfaseratrophien, die sich gruppenförmig anordnen, können als Zeichen einer geringen neurogenen Läsion gedeutet werden. Der Unterschenkel erscheint etwas stärker betroffen als der Oberschenkel.

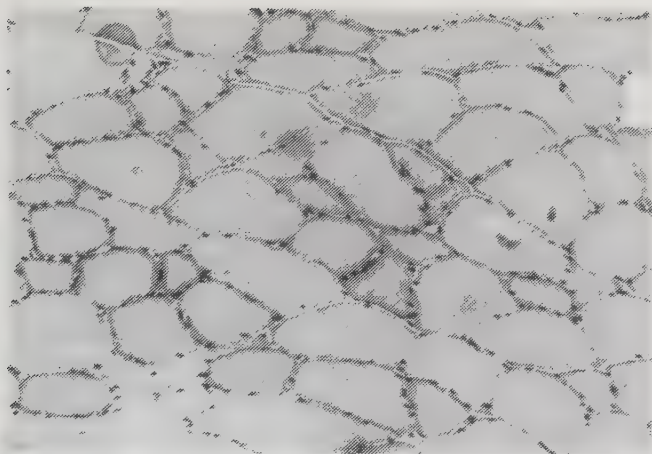


Abb. 44

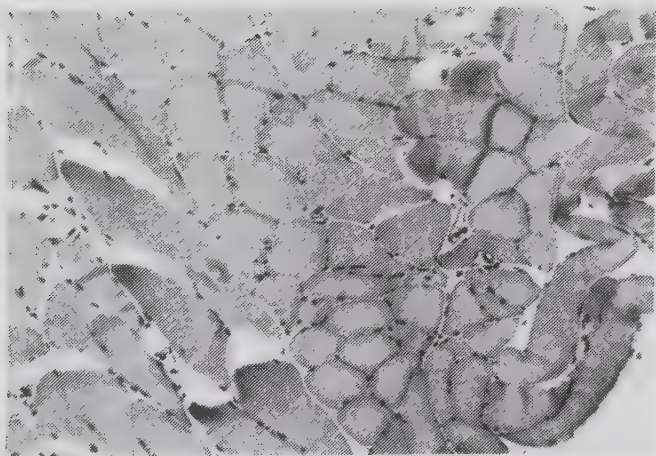


Abb. 45

5. DISKUSSION

5.1 Pathogenetische Grundlagen der Hexacarbonpolyneuropathie

Zur Klärung der Frage, inwieweit Hexacarbonverbindungen morphologische Veränderungen im Organismus hervorrufen, ist es vor allem der Arbeitsgruppe um SPENCER UND SCHAUMBURG gelungen, grundlegende Mechanismen aufzudecken. Hier ein kurzer Abriß der wissenschaftsgeschichtlichen Entwicklung:

Bereits 1964 hatte CAVANAGH (20) ein Konzept zur Pathogenese toxischer Neuropathien vorgelegt. Danach läge eine durch Toxin bedingte Funktionsstörung des neuronalen Perikaryons der Axondegeneration zugrunde. Da eine Proteinsynthese im Axon nicht stattfinden kann, würden die längsten Axone zuerst zugrunde gehen.

Von SPENCER und Mitarbeitern (138) wurde diese These bestritten, da sie feststellten, daß die Verletzlichkeit der Nervenfasern eher von der Dicke des Axons als von seiner Länge abhängig sei. Zudem beobachteten sie distal von Axonschwellungen und Faseruntergängen Axonregenerate noch während der Intoxikationsperiode (139).

MENDELL und andere (89) konnten in ihrer Arbeit zeigen, daß es durch eine Intoxikation durch MBK zu einer zunehmenden Verzögerung des axonalen Transports in proximalen Abschnitten des Nervus ischiadicus von Ratten kommt.

GRIFFIN und andere (59) wiesen in einer Studie nach, daß in den "giant axonal swellings" einer Hexacarbonpolyneuropathie die langsame sowie die schnelle Phase des Axontransports verzögert ist. In einem weiteren Experiment demonstrierte

die Arbeitsgruppe (58), daß unter einer β - β -Iminodipropionitril-Intoxikation (IDPN) auftretende Axoplasmaaufreibungen durch eine selektive Blockade von 10 μ m-Neurofilamenten entstehen, die erfahrungsgemäß in der langsamen Phase des axonalen Transports wandern.

Da sowohl bei Hexacarbonneuropathien als auch den IDPN-Neuropathien die Axonschwellungen ebenfalls aus 10 μ m-Neurofilamenten bestehen, konnte daraus als Fazit gezogen werden, daß bei Neuropathien dieser Art sowohl das langsame als auch das schnelle Transportsystem gestört ist.

Schon in früheren Studien wurde von SABRI und OCHS (120, 121) gezeigt, daß das schnelle Transportsystem von der Energie, die es von GAPDH bezieht, abhängig ist.

SABRI und Mitarbeiter (119) stellten später fest, daß die den Hexacarbonen nicht verwandten Toxine, wie Schwefelkohlenstoff, Acrylamid, die identische experimentelle Neuropathien verursachen, zu einer neurotoxischen Hemmung der Glykolyse auf der Stufe der Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase (GAPDH) führen.

1979 wurde von SPENCER und Mitarbeitern (136) das hypothetische Konzept von der Pathogenese distaler Axonopathien entwickelt:

Danach verursacht eine Störung der Energiesynthese (z.B. durch Hemmung auf der Stufe der GAPDH) viele distale Axonopathien, die zu einer Störung des axonalen Transports in der Gegend des Ranvier'schen Schnürrings führen. Im distalen Axon treten die Störungen zuerst auf, da die intra-axonalen Enzyme, die zur Energiesynthese benötigt werden, über den axonalen Transport von dem entfernt liegenden neuronalen Perikaryon zur Verfügung gestellt werden müssen.

Im Normalfall kann das Perikaryon den Bedarf an glykolytischen Enzymen decken. Hemmt nun ein Toxin die Enzymaktivität der gesamten Nervenfaser, überschreitet der axonale Enzymbedarf die Kapazität des neuronalen Perikaryons. In der Folge werden die Enzyme aufgrund des erhöhten Bedarfs bereits im proximalen Axon aufgebraucht, für das distale Axon dagegen stehen nur noch inadäquate Mengen an Enzymen zur Verfügung.

Ein fehlender Nachschub glykolytischer Enzyme führt nun zu einer regionalen Akkumulation von Neurofilamenten, die den Beginn der axonalen Degeneration und der klinischen Neuropathie bedeutet.

Die Tatsache, daß die Axonschwellungen sich häufig am Ranvier'schen Schnürring lokalisieren lassen, wird mit dem erhöhten Energiebedarf dieser Region bezüglich der neurochemischen Impulsüberleitung und des axonalen Transports erklärt.

SPENCER und Mitarbeiter führen weiter aus, daß das vorgelegte Konzept möglicherweise nicht nur für die toxischen Neuropathien, sondern auch für metabolische Störungen, wie z.B. die diabetische Neuropathie Gültigkeit besitzt.

Die Hypothese, daß der distalen Axonopathie ein Defekt der Energiesynthese zugrunde liegen könnte, wurde durch eine weitere Studie von SABRI und Mitarbeitern (118) bestätigt, die eine Hemmung der Phosphofruktokinase durch 2,5 Hexandion und MBK demonstrierten.

Die Phosphofruktokinase katalysiert folgende Reaktion der Glykolyse:



Die Autoren postulierten, daß 2,5-Hexandion und MBK eine irreversible Bindung mit der Sulfhydryl-Gruppe der Phosphofruktokinase eingehen, die erforderlich für die Enzymaktivität ist.

In neueren Arbeiten werden Zweifel an der Energie-Hypothese laut. Zwei weitere Modelle zur Klärung der Pathogenese der distalen Axonopathie bei toxischer Ursache wurden angeboten:

1. GILLIES und Mitarbeiter (51) folgern aus der Energie-Hypothese von SPENCER, daß bei einer Hemmung der Glykolyse ebenfalls die Fettsäuresynthese durch Glucose-Stoffwechselprodukte einer Inhibition unterliegen müßte. Zur Fettsäuresynthese ist Acetyl-CoA notwendig, das beim Abbau von Glucose, Fettsäuren und ketoplastischen Aminosäuren anfällt.

In einer Studie am freigelegten Ischiadicus-Nerv der Ratte, der klinische Zeichen einer Polyneuropathie zeigte, wurde die Fettsäuresynthese sowohl aus der Glucose als auch aus Acetat untersucht. Als bekannter Hemmstoff der Glykolyse wurde Iodoacetat und der mutmaßliche Glykolyse-Inhibitor 2,5-Hexandion eingesetzt.

Iodoacetat hemmt die GAPDH der Glykolyse und führt damit zu einer Verminderung von Glycerin-3-Phosphat. Dadurch wird weniger Acetyl-CoA für die Fettsäuresynthese zur Verfügung gestellt. Zudem konnte auch eine Hemmwirkung auf die Lipogenese durch Acetat festgestellt werden. Der Mechanismus dieser Störung ist noch unklar.

Eine inhibitorische Wirkung von 2,5-Hexandion auf die Glykolyse konnte nicht demonstriert werden.

Dagegen wurde eine selektive Hemmung von 2,5-Hexandion auf die Fettsäuresynthese beobachtet, die nach der Formation von Acetyl-CoA erfolgt.

In einer früheren Studie konnten GILLIES und Mitarbeiter (50) bereits konstatieren, daß 2,5-Hexandion die Cholesterinsynthese auf der Stufe zwischen Acetyl-CoA und

Mevalonsäure stört.

Die Feststellung dürfte in Übereinstimmung mit der Beobachtung von COURI und NACHTMAN (23) stehen, die eine verminderte Mikroviskosität am Ischiadikus-Nerv bei 2,5-Hexandion-behandelten Ratten als Vorläufer klinischer Zeichen einer peripheren Neuropathie ansehen.

2. GRAHAM und Mitarbeiter (56, 57) beobachteten in in-vitro-Versuchen, daß 2,5-Hexandion ein stabiles Chromophor mit ϵ -Aminogruppen von Proteinen bildete; das Chromophor hatte das Absorptionsspektrum und die Fluoreszenz-Eigenschaften einer Schiff'schen Base.

Aus dieser Beobachtung heraus wurde postuliert, daß der initiale molekulare Schädigungsmechanismus bei der Hexacarbonneuropathie in einem "cross-linking" von Proteinen und Neurofilamenten durch 2,5-Hexandion entsteht.

Danach resultiert in jedem Fall aus dem Aufeinandertreffen von toxischen Metaboliten und Neurofilamenten ein "cross-linking" während des langsamen axonalen Transportflusses. Dies führt zu einer Reduktion des axonalen Durchmessers am Ranvier'schen Schnürring, der dadurch erklärt wird, daß der Obstruktion des proximal-distalen Axontransports eine wachsende Anzahl an Neurofilamenten zugrunde liegt.

Nehmen nun die Aggregate an Neurofilamenten so stark zu, daß es zu einer Hemmung des axonalen Transports kommt, führt dies zu Axonschwellungen proximal des Ranvier'schen Schnürrings und zu degenerativen Veränderungen im distalen Bereich.

Die Lokalisation der Axonschwellung, ob es nun zu einer proximalen oder distalen Veränderung kommt, wird von der Anzahl der Protein "cross-linking" Aktivität bestimmt.

5.2 Pathogenetische Grundlagen der alkoholischen Polyneuropathie

Eines der Hauptprobleme der alkoholischen Polyneuropathie ist die Klärung der Ursache, die zur Nervenschädigung führt.

In früheren histologischen und elektrophysiologischen Studien wurde vermutet, daß die Schädigung der Schwann'schen Zelle und damit die segmentale Demyelinisation das ursächliche Phänomen für die Entwicklung der alkoholischen Polyneuropathie sei (26, 86, 154).

Andere Forscher favorisierten die Hypothese, daß primär eine axonale Läsion entsteht, die eine alkoholische Neuromyopathie und sekundär eine Schädigung der Schwann'schen Zelle hervorruft (36, 158, 167).

Daß beide vorgenannten Hypothesen bei der Pathogenese der alkoholischen Polyneuropathie zum Tragen kommen, wurde von BISCHOFF (12) behauptet.

FULLERTON (48) vermutete einen dosis- und zeitabhängigen Effekt beim Auftreten von Störungen der Schwann'schen Zelle oder des Axons.

Von BEHSE und Mitarbeitern (10) wurden 1977 37 Patienten mit alkoholischer Polyneuropathie untersucht, die teilweise ein offenkundiges Ernährungsdefizit aufwiesen und verglichen mit 6 Nicht-Alkoholikern mit Ernährungsmangelsymptomen nach Gastrektomie-Operation.

Die Anzahl und Größenverteilung der myelinisierten und nicht myelinisierten Nervenfasern des N. suralis und die Inzidenz demyelinisierter und remyelinisierter Fasern wurde ebenso bestimmt wie die Nervenleitgeschwindigkeit und Amplitude des sensorischen Potentials in der gleichen Nervenfasern und entlang anderer sensorischer und motorischer Nerven.

Sie konnten die These von DENNY-BROWN (26), der 2 Typen der alkoholischen Neuropathie beschrieben hatte, einen sensorischen und einen kombiniert sensorisch-motorischen Typ, nicht bestätigen. Vielmehr fanden sie aufgrund der elektro-physiologischen und nervenbiptischen Studien heraus, daß hinsichtlich der klinischen Manifestation eher eine unterschiedlich starke Ausprägung festzustellen ist.

Auch ein Vitamin B₁-Mangel als Ursache der Erkrankung konnte von den Autoren ausgeschlossen werden. Die Patienten mit offenkundigem Ernährungsmangel zeigten normale Thiaminspiegel im Blut, lediglich der Folsäurewert war bei 1/3 der Patienten erniedrigt.

Bei der Auswertung der Nervenbiopsien konnten sie demonstrieren, daß die segmentale Demyelinisation nicht wie von anderen Autoren behauptet (26, 52) die primär-schädigende Ursache für die Erkrankung darstellt.

BEHSE und Mitarbeiter bestätigten die Befunde von WALSH und Mc LEOD (167), wonach die alkoholische Polyneuropathie durch eine axonale Degeneration langer und schmaler myelinisierter Nervenfasern charakterisiert ist.

Ebenso konnten regenerierte myelinisierte Fasern nur bei leicht involvierten Alkoholikern nachgewiesen werden.

Aber selbst nur dann in 1/3 der Fälle.

Die mangelnde Regeneration myelinisierter und nicht myelinisierter Fasern steht in Übereinstimmung mit der sensorischen Schwäche, die selbst nach 2 und mehr Jahren bei 17 von 18 Patienten konstatiert werden konnte.

MAWDSLEY und MAYER (86) konnten eine verminderte Leitungsgeschwindigkeit mehr im distalen als im proximalen Bereich des betreffenden Nerven feststellen.

CASEY und LE QUESNE (19) fanden eine kleinere Amplitude des sensorischen Potentials an der Basis des Fingers als am Handgelenk.

BEHSE und Mitarbeiter (10) sahen keine Unterschiede hinsichtlich der Nervenleitgeschwindigkeit des N. peroneus und distal des capitulum fibulae des Fußknöchels.

Es wurden auch keine Hinweise auf eine Mitbeteiligung des Rückenmarks, wie sie von ERBSLÖ und ABEL (38) beschrieben wurden, sichtbar.

Bisher wurden nur wenige tierexperimentelle Studien zur alkoholischen Polyneuropathie publiziert.

JUNTUNEN und Mitarbeiter (73) konnten in einem Langzeitversuch mit Ratten nach 5 Monaten eine Polyneuropathie auslösen. Die Veränderungen zeigten sich in den Schwann'schen Zellen, die darin bestanden, daß leichte Schwellungen der Zellen auftraten.

Nach 7,5 Monaten wurden die Veränderungen in den Schwann'schen Zellen deutlicher und die Anzahl der geschädigten Axone nahm zu, während das Axoplasma der Nervenzellen normal erschien.

Nach 9,5 Monaten Expositionsdauer konnten Veränderungen der Schwann'schen Zellen in verschiedenen Schweregraden bei den meisten der großen Nervenfasern beobachtet werden. Auch kleine Fasern waren beeinträchtigt. Zudem wurde eine Zunahme kleiner Fasern verglichen mit der Kontrollgruppe sichtbar. Die Ultrastruktur der Nervenfasern war nur leicht beeinträchtigt. Es traten Anhäufungen von Neurofilamenten ebenso wie gelegentlich "smooth surfaced vacuoles and dense bodies" auf.

Degenerative Veränderungen kamen sowohl in der Alkohol- als auch in der Kontrollgruppe in Form einer Waller'schen Degenerationerscheinung vor.

Ein Anstieg der nichtspezifischen Cholinesterase trat nach 7monatiger Expositionsdauer auf.

Eine Aktivitätszunahme dieses Enzyms konnte ebenfalls bei einer Carbon-Disulphid induzierten Polyneuropathie festge-

stellt werden (71). Die nichtspezifische Cholinesterase könnte deshalb nach Meinung der Autoren als Indikator für eine frühe Nervenschädigung bei Polyneuropathie Anwendung finden.

In einer späteren Arbeit wurde von JUNTUNEN und Mitarbeitern (72) die histologischen Befunde bestätigt. Es wurde zusätzlich demonstriert, daß ein Thiamin-Mangel, dargestellt anhand der Transketolaseaktivität einen schädigenden Einfluß auf den peripheren Nerven und Muskel hat. Dieser Effekt wird durch simultane Gabe von Alkohol verstärkt.

Die beobachteten Veränderungen am Muskel bestanden aus Einzel- und Gruppenfaser-Atrophien, Phagozytose von Muskelfasern und Verteilungsstörungen der NADH-Diaphorase.

BOSCH und Mitarbeiter (14) konnten mit Hilfe der Polydipsie- und einer Flüssig-Diät-Technik ungewöhnlich hohe Äthanolspiegel im Blut erreichen ($> 100 \text{ mg}/100 \text{ ml}$).

Die Versuche wurden 16 - 18 Wochen durchgeführt.

Die morphologische Auswertung ergab eine milde distale axonale Neuropathie im ventral-caudalen Nerven. Die Veränderungen umfaßten alle Stadien der Axondegeneration, von Axonzylinderschwellungen bis zur kompletten Axonerstörung. Diese pathologischen Erscheinungen wurden in bis zu 20 % der myelinisierten Fasern beobachtet.

Es wurden keine auffälligen biochemischen und elektrophysiologischen Veränderungen gegenüber Kontrolltieren konstatiert.

Es muß hervorgehoben werden, daß bei allen tierexperimentellen Untersuchungen zwar morphologische Veränderungen festgestellt werden konnten, daß es jedoch bisher unmöglich war, ähnlich starke periphere Neuropathien, wie sie beim Menschen beobachtet wurden, auszulösen. Dazu gehören auch die fehlenden klinischen Symptome bei Tieren mit peripherer Neuropathie, die bei Patienten sehr eindrucksvoll imponieren.

Bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt ist nicht endgültig geklärt, ob die Pathogenese der alkoholischen Neuropathie durch die direkte Wirkung des Alkohols auf das Nervensystem, wie z.B. von BEHSE und Mitarbeitern (10) postuliert, zu erklären ist.

Aufgrund der multifaktoriellen Genese von Polyneuropathien, und da wahrscheinlich viele alkoholische Polyneuropathien beim Menschen durch ein Zusammenwirken von Ernährungsfehlern und Umwelteinflüssen verursacht sein dürften, wird es auch in Zukunft schwer sein, die Verantwortlichkeit von Alkohol bei der Entstehung einer Neuropathie abzuschätzen.

Weiterhin bleibt auch die Frage offen, warum nur ca. 30 % der Patienten mit chronischem Alkoholabusus ein polyneuropathisches Krankheitsbild aufweisen.

5.3 Interaktionen von Lösemitteln und Alkohol in bezug auf das Nervensystem

Das Nervensystem ist eines der Hauptangriffsziele des Alkohols und ebenso der industriell weitverbreiteten Lösungsmittel.

In der Vergangenheit wurde ausführlich über Interaktionen von Medikamenten und Alkohol berichtet. Vor allem über das Zusammenwirken von Alkohol mit zentraldämpfenden (z.B. Barbiturate) und zentralerregenden Pharmaka, Antidepressiva, Rauschgifte, Antidiabetika, Diuretika, Antikonvulsiva, Lokalanästhetika, Analgetika, Antibiotika, Antihistaminika, Antikoagulantien, liegen zahlreiche Studien vor (27, 85, 126, 131).

Allerdings ist bisher relativ wenig bekannt geworden über Kombinationseffekte von Alkohol und Lösungsmitteln bei Menschen.

Lösungsmittel werden am Arbeitsplatz vor allem über die Lungen, seltener über die Haut oder den Gastro-Intestinaltrakt resorbiert. Nach vorangegangener, gleichzeitiger oder anschließender Aufnahme von alkoholischen Getränken, kann es in bestimmten Fällen zu Interferenzerscheinungen kommen. Dabei spielen die Dauer der Aufnahme (kurzfristig oder langfristig) und die Konzentration der jeweiligen Schadstoffe eine entscheidende Rolle.

Es sind grundsätzlich pharmakokinetische Interaktionen in Form einer Änderung der Pharmakokinetik durch veränderte Absorptions-, Distributions-, Metabolisierungs- und Ausscheidungsverhältnisse des Arbeitsstoffes oder des Äthanol's ebenso möglich wie pharmakodynamische Wechselwirkungen im Sinne eines Synergismus (Addition, Potenzierung) bzw. Antagonismus.

Hinzu kommt noch die Variante einer Alkoholintoleranz-Reaktion, die beim Zusammenwirken von Disulfiram und Alkohol erstmals bekannt geworden ist.

Nachfolgende Tabelle gibt Aufschluß über die bisher bekanntgewordenen Interaktionen von Äthanol mit dem entsprechenden Arbeitsstoff (nach K.J. FREUNDT, in: Kombinierte Belastung am Arbeitsplatz, 1982) (46).

1. AROMATISCHE KOHLENWASSERSTOFFE

- a) Benzol (+, ↔)
- b) Xylol (+)
- c) Toluol (+/-)
- d) Styrol (+/-)

2. AROMATISCHE NITRATE

- a) Anilin (↔)
- b) m-Dinitrobenzol (+)
- c) 2,4-Dinitrophenol (↔)

3. HALOGENIERTE KOHLENWASSERSTOFFE

- a) Dichlormethan (+)
- b) Trichlormethan (+)
- c) Tetrachlorkohlenstoff (+)
- d) Monochlorethan (+)
- e) 1,2-Dichlorethan (+)
- f) 1,1,1-Trichlorethan (+)
- g) 1,1,2,2-Tetrachlorethan (+)
- h) Trichlorethylen (+, ↔)
- i) Perchlorethylen (+)
- j) Vinylchlorid (+)
- k) Haloethan (+)

4. AMIDE.

Dimethylformamid (↑, ↔), n-Butyramid (↔)

5. CS-TRAGENDE VERBINDUNGEN

Schwefelkohlenwasserstoff (↑), Tetramethylthiuramdisulfid (↑, ↔), Tetramethylthiurammonosulfid (↔), Tetraethylthiuramdisulfid (↑, ↔), Zineb (↔) Metabolite von Kalkstickstoff (CaCN_2) (↑, ↔), Ziram (↔)

6. ALIPHATISCHE ALKOHOLE

Methanol (↔), 2-Propanol (↔), Allylalkohol (+)

7. GLYKOLE UND ALIPHATISCHE NITRATE

Ethylenglykol (↔), Ethylenglykoldinitrat (↔), Ethylenglykolmononitrat (↔), Propylenglykoldinitrat (↔), Glycerintrinitrat (-, ↔)

8. ALDOXIME

n-Butylaldoxim (↔), Isobutylaldoxim (↔), Acetaldoxim (↔), Heptaldoxim (↔)

9. PESTIZIDE

Cycloheximid (-), Chlordimeform (+, ↔), Methomyl (+), Dicrotophos (↔), andere Organo-Phosphorsäure-Insektizide (↔), Dieldrin (↔), DDT (↔)

10. KOHLENMONOXID (+)

11. METALLE

Mn (↔), Fe (↔), Co (+), Zn (↔), Cd (↔), Hg (↔), Pb (+, ↔)

Zeichenerklärung: + = synergistisch-additive Effekte
- = antagonistische Effekte
↔ = Änderung der Pharmakokinetik
↑ = Äthanol-Intoleranz-Reaktion
(Disulfiram-Äthanol-Reaktion)

Tab. 19

Bemerkenswert ist der Tatbestand, daß bei den beobachteten Interaktionen zwischen Lösungsmitteln und Äthanol bisher keine Publikationen vorliegen, die die neurotoxischen Effekte auf das periphere Nervensystem beschreiben (46).

Auf das zentrale Nervensystem wurde eine Verstärkung der Äthanolwirkung im Sinne einer exzitatorischen bzw. depressiven Wirkung bei narkotisch wirksamen Aromaten wie Xylol (123, 124) und Benzol (15) festgestellt.

Anhand von Tierversuchen wurde gezeigt, daß auch halogenierte Aliphate in der Lage sind, die zentralneurotoxische Wirkung des Äthanols zu potenzieren.

Interaktionen sind auch zwischen Äthanol und Metallen beschrieben worden. Im Zusammenwirken von Blei wurde beobachtet, daß zusätzliche Gabe von Alkohol zu einer Vermehrung der Einschußkörperchen und des Bleis in den Nieren (81) und zu einer Verminderung der δ -Aminolävulinsäuredehydratase-Aktivität (92) führt. Obwohl die neurotoxische Wirkung von Blei eingehend untersucht wurde, sie führt zur Polyneuropathie und Enzephalopathie, ist bisher noch nichts über die kombiniert neurotoxische Wirkung mit Äthanol bekanntgeworden.

In neuerer Zeit wurden Anzeichen dafür gefunden, daß sich Blei und n-Hexan synergistisch auf die Neurotoxizität des peripheren Nervensystems verhalten (8).

Quecksilber ist ebenfalls ein Schwermetall, von dem man weiß, daß es Polyneuropathien auslösen kann. Auch mit diesem Neurotoxin sind Kombinationswirkungen mit Äthanol noch nicht erforscht worden.

Interferenzwirkungen sind auch denkbar bei Patienten, die an Stoffwechselerkrankungen mit neurotoxischer Auswirkung leiden (z.B. Diabetes mellitus) und gleichzeitig Alkoholiker sind.

In einer Aufgliederung der Polyneuropathiearten im Klinikum Mannheim (Gesamtzahl: 1725 Fälle) steht die diabetische Polyneuropathie an 2. Stelle mit 28,5 % hinter der durch Alkoholismus hervorgerufenen Polyneuropathie (30,8 %) (97).

Für Polyneuropathien multifaktorieller Genese, die einen erheblichen Anteil an Diabetikern und Alkoholikern enthalten, werden 13,9 % angegeben.

Leider ist bisher nichts über das Zusammenwirken dieser wichtigen Faktoren bekannt geworden.

5.4 Eigene Befunde

5.4.1 Gewichtsentwicklung

In der Äthanolbelastungsphase beobachteten wir eine deutliche Verzögerung der Körpergewichtszunahme bei den Tieren, die täglich Äthanol als flüssige Nahrung erhielten.

Bei gleichem Ausgangsgewicht wies die Äthanolgruppe bereits nach wenigen Tagen Äthanolfütterung ein deutlich niedrigeres mittleres Körpergewicht auf, als die mit gleicher Kost und Wasser ernährte Kontrollgruppe. Die Differenzen in der Gewichtsentwicklung blieben stets signifikant. Am Ende des Experiments wies die Äthanol-belastete Gruppe bei gleichem Ausgangsgewicht ein durchschnittlich 41 % geringeres Gewicht auf als die Kontrollgruppe.

Der steile Anstieg der Wachstumskurve zum Anfang der Versuchsphase läßt sich dadurch erklären, daß die noch jungen Tiere ihre Wachstumsentwicklung noch nicht abgeschlossen hatten.

Von HAWKINS (63) nach 12wöchiger und PATEK (104) nach 19-monatiger Äthanolfütterung von Ratten, bei gleichzeitig hohem Eiweißgehalt der angebotenen Kost, konnten keine Unterschiede im Wachstumsverhalten zur Vergleichsgruppe festgestellt werden.

Andere Autoren berichten dagegen über eine deutliche Wachstumsverzögerung (61, 87) bis zum Gewichtsverlust (73) bei längerer Alkoholexposition der Ratte.

JUNTUNEN und Mitarbeiter (73) stellten am Ende ihres Experiments fest, daß die über 9,5 Monate mit 10, 20 und 25 % igem Äthanol gefütterten Tiere durchschnittlich 46 % weniger wogen als die Vergleichsgruppe.

Von RATCLIFFE (113) wird die Wachstumsverzögerung, die harmonisch und "maßstabsgetreu" abläuft, auf eine verminderte Sekretion von STH zurückgeführt, die durch eine generalisierte Suppression der Hormone des HVL durch Äthanol bedingt sei.

KLATSKIN (76) und KOCH (77) dagegen sind der Auffassung, daß der physikalische Brennwert des Äthanol nicht dem physiologischen entspricht und dadurch trotz erhöhter Kalorienaufnahme bei den Alkoholtieren eine gegenüber den Kontrolltieren verminderte Aufnahme für anabole Prozesse tatsächlich verwertbarer Kalorien resultiert.

Bei allen Gruppen konnten während der Expositionsphase Gewichtsverluste beobachtet werden.

Die deutlichste Gewichtsverminderung konnte bei den Kollektiven festgestellt werden, die n-Hexan voll- oder teilexponiert waren (Kollektiv 1, 2, 4).

Bei den übrigen Gruppen war nur eine leichte Abnahme des Gewichts zu konstatieren, wobei Ratte 2 des Äthanol-Kollektivs eine gruppenuntypische Gewichtsminderung aufweist.

Bei inhalativer Exposition von Lösungsmitteln wird häufig von Gewichtsabnahmen berichtet.

SPENCER (140) konnte eine relative Gewichtsabnahme z.B. bei MBK bedampften Ratten und SAIDA (122) bei kombinierter MBK/MEK-Inhalation nachweisen.

ALTENKIRCH (6) konnte bei n-Hexan, n-Hexan/MEK-Gemisch und MEK-exponierten Ratten einen Gewichtsverlust im Vergleich zur Kontrollgruppe nachweisen.

TAKEUCHI und Mitarbeiter (152) beobachteten bei einer inhalativen, vergleichenden Studie mit n-Hexan nach 8 Wochen (bei 12 h Exposition pro die) eine Zunahme des Gewichts,

nach 16 Wochen jedoch eine Gewichtsreduktion, die sie als typisch für eine n-Hexan-Intoxikation bezeichnen: "... and loss of body weight may be one of the important indices of n-hexane intoxication."

Diese tierexperimentellen Beobachtungen entsprechen klinischen Berichten von n-Hexan-exponierten Patienten, bei denen eine auffallende Untergewichtigkeit festgestellt werden konnte (5, 150, 157).

Die Ursache des Gewichtsverlustes der n-Hexan teil- oder vollexponierten Tiere ist nicht bekannt. Gastrointestinale, stoffwechselbedingte und zentralnervöse Aspekte können in Betracht gezogen werden.

5.4.2 Sonstige klinische Auffälligkeiten

Wie unter Punkt 4.2.1.2 beschrieben, konnte bei einigen Tieren eine rötliche Fellverfärbung beobachtet werden. Allerdings konnte kein Zusammenhang mit der Lösungsmittlexposition festgestellt werden, da die Veränderungen Tiere aller Versuchsgruppen betraf und meist schon bei Expositionsbeginn vorhanden war.

ALTENKIRCH (4) deutete die orangerote Fellverfärbung als "verlässlichen Vorboten" einer Hexacarbonneuropathie, da sie regelmäßig eine Woche vor Ausbruch der Polyneuropathie auftrat.

GRAHAM und Mitarbeiter (57) beobachteten ähnliche Erscheinungen und erklärten sie mit der Oxidation des Pyrrol-Ringes, die aus der Reaktion von γ -Diketonen mit Lysil-Residuen des stabilen Keratin-Tonofilaments des Haares resultiert.

5.4.3 Neurologische Befunde

In der Expositionsphase traten Lähmungserscheinungen in Form einer beginnenden Hinterbeinschwäche bei Kollektiv 1, 2 und 4, also den n-Hexan voll- bzw. teilexponierten Tieren bereits am Anfang der 2. Woche auf.

Zu einer Paraplegie im Sinne einer kompletten Hinterbeinlähmung kam es in der 4. bzw. 5. Woche bei 2 Tieren der n-Hexan-Gruppe. Das 3. Tier dieses Kollektivs zeigte eine starke Beeinträchtigung des Bewegungsablaufs, es waren jedoch noch schwache Mitbewegungen der Hinterbeine zu erkennen.

Diese Ergebnisse entsprechen in etwa denen von ALTENKIRCH (4), der in der 4. Woche bei kontinuierlicher Bedampfung mit 700 ppm n-Hexan ausgeprägte Hinterbeinschwächen der Versuchstiere feststellte.

Bei SCHAUMBURGS Experiment 1976 (145) traten erste Lähmungserscheinungen bei einer Konzentration von 500 ppm n-Hexan nach 9 Wochen bei den Versuchstieren auf.

Zwar konnte bei den Tieren des Kollektivs 1, bei denen ebenfalls eine n-Hexan-Bedampfung mit 700 ppm durchgeführt wurde, auch bereits am Anfang der 2. Expositionswoche eine leichte Beeinträchtigung des Bewegungsablaufes festgestellt werden, jedoch zeigten sich die Auswirkungen als bedeutend schwächer gegenüber der n-Hexan-bedampften Gruppe. Die Bewegungsbeeinträchtigung der Kombinationsgruppe erreichte niemals den Grad einer ausgeprägten Lähmung.

Ein ähnlich unterschiedliches Verhalten zwischen beiden Kollektiven konnten wir bei der Prüfung des Klettertests feststellen. Bereits in der 3. Expositionswoche war ein Tier der n-Hexan-Gruppe zu schwach, um in den Käfig zurückzuklettern. In der letzten Woche der Expositionszeit scheiterten alle Ratten dieser Gruppe.

Anders dagegen das Kollektiv 1, das geschlossen die Hürde zu jeder Phase der Bedampfungsperiode meisterte.

Entsprechend unterschiedliche Ergebnisse zwischen der n-Hexan und der Äthanol/n-Hexan-Gruppe konnten wir bei der Auswertung des Fall- und Spreizreflexes beobachten, wenngleich die Resultate der letztgenannten Prüfung nicht so deutlich ausfielen.

Bei der Äthanol-Gruppe konnten wir eine leichte Reflexabschwächung und Einschränkung des Bewegungsablaufs in Form eines ausgedehnten "Watschelganges" in der 3., 4. bzw. 5. Woche nach Expositionsbeginn beobachten.

JUNTUNEN und Mitarbeiter (73) ebenso wie BOSCH und Mitarbeiter (14) stellten keine Veränderungen im Gangbild und auch keine sonstigen Zeichen neurologischer Störungen fest.

Eine leichte Beeinträchtigung des Bewegungsablaufs sowie eine verzögerte Reflexreaktion konnte von uns bei den Kollektiven 4 und 5 festgestellt werden.

5.4.4 Biochemische Befunde

5.4.4.1 Gamma-Glutamyltransferase-Bestimmung im Serum

Bei Erwachsenen läßt sich in der Regel durch biochemische Untersuchungen der Enzymmuster im Serum die alkoholische Genese der Erkrankung eruieren. Dabei läßt die Bestimmung der Aktivität der für Lebererkrankungen typischen Serumenzyme nicht nur Schlüsse auf die Lokalisation der Enzyme, sondern auch auf die Ausbreitung der Organläsion, Ablaufgeschwindigkeit und Stadium des pathologischen Prozesses und die Art der Zellschädigung ziehen (149).

Sowohl beim Menschen als auch beim Tier ließen sich nach chronischer Verabreichung von Alkohol signifikante Anstiege der GGT-Aktivität im Blut beobachten, während andere Transaminasen wie z.B. die Leucinaminopeptidase und die alkoholische Phosphatase keinen signifikanten Aktivitätsanstieg zeigten (2, 22, 116, 117, 175).

In den eigenen Versuchen ergab sich bei der Bestimmung der GGT-Aktivität wider Erwarten keine deutliche Erhöhung in den Äthanol-gefütterten Kollektiven. Die Werte lagen zwischen 0,1 und 1,1 U/l.

5.4.4.2 Transketolaseaktivitätsbestimmung im Blut

Bei der Genese der alkoholischen Polyneuropathie kommen sowohl rein toxische, als auch metabolische Faktoren, besonders eine chronische Mangelernährung in Betracht.

Letztere wurde vor allem als Vitamin B₁-Defizit beschrieben (24, 42, 148) und ursächlich für die alkoholische Polyneuropathie gemacht (86, 155, 166, 169).

Zum Nachweis eines Vitamin B₁-Mangels dienten die Bestimmung der Transketolaseaktivität, deren Coenzym Thiaminpyrophosphat ist. JUNTUNEN und Mitarbeiter (72) untersuchten die Transketolaseaktivität in 3 Kollektiven mit Ratten bei einer normalen Thiamin-Diät (5 mg/kg), Thiamin-Überschuß-Diät (60 mg/kg) und einer Thiamin-Mangel-Diät (0,9 mg/kg). Die 3 Kollektive wurden nochmals in Zweier-Gruppen unterteilt, die jeweils Wasser oder Äthanol als Flüssignahrung erhielten. JUNTUNEN konnte tatsächlich eine signifikant geringere Transketolaseaktivität bei den Tieren nachweisen, die eine Thiamin-Mangel-Diät bekamen. Erstaunlicherweise lagen die Werte der mit Äthanol gefütterten Tiere höher als bei der Gruppe, die Wasser angeboten bekam. Er machte dafür Schwankungen innerhalb der Gruppe verantwortlich.

BOSCH und Mitarbeiter (14) konnten bei ihren nach dem Polydipsie-M d 11 behandelten Tieren keine unterschiedlichen Transketolaseaktivitäten im Verhältnis zur Kontrollgruppe feststellen.

Unsere Experimente bestätigen die Ergebnisse von BOSCH und Mitarbeitern (14). Die Äthanol-behandelten Tiere zeigten nach 338 Tagen keine signifikant niedrigeren Transketolase-Werte als die der Vergleichsgruppe (s. Tab. 8).

Auch nach Exposition wurden keine bedeutenden Unterschiede unter den Gruppen sichtbar.

In einer neueren Arbeit verglichen MEYER und Mitarbeiter (90) zur Feststellung des Vitamin B₁-Mangels bei 26 Patienten mit alkoholischem Prädellir (73 % hatten klinische Zeichen einer Polyneuropathie) die Transketolaseaktivitäts-Methode mit der direkten Bestimmung des Vitamin B₁-Spiegels im Blut. Die direkte Bestimmung des Vitamin B₁-Spiegels zeigte einen Mangel, die Bestimmung durch die Transketolaseaktivität dagegen kein Defizit gegenüber der Vergleichsgruppe.

MEYER und Mitarbeiter sehen deshalb in der Bestimmung des Vitamin B₁-Mangels durch den Transketolaseaktivitätstest keine geeignete Methode, da andere Faktoren wie z.B. Aufbau des Apo-Enzyms in der Leber oder die Phosphorylierung zu berücksichtigen sind, die eine direkte Beziehung zum Vitamin B₁-Spiegel stören.

5.4.5 Die lichtmikroskopischen Befunde

Die lichtmikroskopischen Ergebnisse der n-Hexan-bedampften Tiere bestätigten die Befunde anderer Autoren (122, 132). Es konnten die frühen Zeichen der Axondegeneration (Axonschwellung) ebenso wie die späten Stadien der Zerstörung der axonalen Strukturen (Axonzerfall, Ovoide) beobachtet werden (s. Tab. 10).

Axonauftreibungen wurden in tierexperimentellen Untersuchungen bereits von verschiedenen Autoren beschrieben:

DUCKETT (34) sah bei Ratten nach inhalativer MBK-Exposition "axonal hypertrophy and breeding".

MENDELL (89) konnte bei MBK-Bedampfung von Hühnern, Ratten und Katzen "focal, often abrupt swellings of the axon" feststellen.

SPENCER (140) fand "giant axonal swellings" bei MBK-bedampften Ratten und Katzen.

SAIDA (122) beschrieb "denuded swollen axons" ebenfalls nach inhalativer MBK-Inhalation bei Ratten.

SCHAUMBURG (145) sah nach inhalativer und subcutaner Applikation von n-Hexan "local axonal dilatation".

WINTER (172) fand Axonschwellungen mit sekundärer Verdünnung der Myelinscheiden bei n-Hexan und MBK/n-Hexan exponierten Ratten.

Ovoide und das Stadium des Axonzerfalls wurde auch von den meisten Autoren beschrieben (89, 122, 140, 145, 172).

In unseren morphologischen Studien dominierte in der Regel die Formation der Axonschwellung, wenngleich bei jeweils einem Tier der Gruppe 1, 4 und 5 Ovoide vornehmlich vertreten waren.

MENDELL (89) und SPENCER (140) sahen ebenfalls gelegentlich Ovoide, Axonschwellungen waren jedoch häufiger zu sehen. In WINTERS Studie (172) wurden relativ mehr Ovoide gefunden.

Ausgeprägte Axonzerstörungen traten in unseren Studien deutlich in Erscheinung.

Am stärksten betroffen war das Versuchstier des Kollektivs 2, bei dem im morphologischen Präparat massenhaft Axonschwellungen sichtbar waren und daneben reichlich Axonzerfallserscheinungen und Ovoidfraktionen deutlich hervortraten.

Die Befunde des Muskels korrelierten mit den Ergebnissen der morphologischen Untersuchungen am peripheren Nervensystem. Stärkste Veränderungen stellten wir ebenfalls bei dem Tier der n-HexanGruppe im Sinne von gruppenförmigen Atrophien, vielen zentral gelegenen Kernen und oft runden Zellen fest.

Von anderen Autoren (4, 141, 152) wurden ähnliche Befunde beschrieben. Als Ursache kommen in erster Linie die Denervation der entsprechenden Muskelsegmente in Frage. Daneben werden direkt myotoxische Effekte von n-Hexan vermutet (4, 152).

Die lichtmikroskopischen Befunde der Äthanol-behandelten Tiere zeigten leichte bis mittelgradige Veränderungen des peripheren Nerven, vergleichbar mit der Aceton-Gruppe. Früh- und Spätformen morphologischer Veränderungen waren zu sehen. Axonschwellungen wurden vornehmlich beobachtet.

Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit denen anderer Autoren (10, 14, 73), die ebenfalls gelegentlich vorkommende Axondegenerationen und Axonschwellungen beschrieben.

Die Hinterbeinmuskulatur des Äthanol-behandelten Tieres zeigte eine milde Schädigung, die aus einzelnen atrophierten Muskelfasern ersichtlich wurde.

JUNTUNEN (72) und TERÄVÄINEN (153) fanden ebenfalls nur leichte Veränderungen bei Äthanol behandelten Ratten: Einzel- und Gruppenfaseratrophien, Phagozytose von Muskelfasern und Veränderungen der Verteilung der NADH-Diaphorase.

Auffallend sind die lichtmikroskopischen Befunde der Aceton-Gruppe. Wenngleich Aceton als nichtneurotoxisches Agens gilt (133), waren doch ähnlich starke Veränderungen des peripheren Nervensystems wie bei der Äthanol-Gruppe sichtbar.

Möglicherweise spielt das fortgeschrittene Alter der Tiere eine Rolle. Denn wie in neueren Studien festgestellt wurde, lassen sich bei älteren Tieren physiologischerweise neurologische Veränderungen beobachten, die von denen der Versuchstiere nur schwer zu unterscheiden sind (60, 135). Dagegen sprechen allerdings die nur andeutungsweise sichtbaren Veränderungen der Vergleichsgruppe.

Die lichtmikroskopischen Befunde der Aceton/n-Hexan-Gruppe wiesen leichte bis mittelgradige pathologische Veränderungen auf. Früh- und Spätformen der axonalen Degeneration waren erkennbar. Der Schweregrad der Schädigung war mit dem des Äthanol/n-Hexan-Kollektivs vergleichbar. Obwohl berücksichtigt werden muß, daß die Tiere der Aceton/n-Hexan-Gruppe lediglich mit 500 ppm n-Hexan bedampft wurden, scheint uns ein potenzierender Effekt durch Aceton nicht vorzuliegen.

Die histologische Auswertung der Leberpräparate ergab keinen eindeutigen Befund, insbesondere nicht im Vergleich der Äthanolgruppe mit der Kontrollgruppe. Bei einem Teil der Präparate aus den Gruppen 2, 3, 4 und 6 konnten leicht vermehrte Fetteinlagerungen beobachtet werden, die jedoch nicht die Diagnose einer manifesten Fettleber zuließ.

Die Tatsache, daß es auch LIEBER (80) nicht gelang, bei der Ratte nach Äthanolfütterung Leberveränderungen zu reproduzieren, die über eine Fettleber hinausgehen, führt er auf den mit 36 % der Gesamtkalorien zu niedrigen Alkoholgehalt der flüssigen Kost zurück.

Auch dem Zeitfaktor mißt er eine Bedeutung bei: während bei Menschen ein regelmäßiger Alkoholgenuß von 5 bis 25 Jahren Dauer zur Ausbildung einer Leberzirrhose nötig ist, wäre es denkbar, daß eine durchschnittliche Lebensdauer der Ratte von nur 2 Jahren eine entsprechende Entwicklung verhindern könnte.

Auch PATEK und Mitarbeiter (104) konnten bei alkoholgefütterten Tieren keine wesentlichen Veränderungen außer einer leichten Vermehrung des hepatischen Kollagens sowie eines mäßig erhöhten Triglyceridgehaltes der Leber erkennen.

Angesichts der Ergebnisse, die im Vergleich zwischen der n-Hexan-Gruppe und dem Äthanol/n-Hexan-Kollektiv erzielt wurden, kann festgestellt werden, daß der Organismus der Ratte neurotoxisch stärker geschädigt wird, wenn lediglich n-Hexan eingeatmet wird.

Daraus wäre eine gewisse protektive Wirkung des Äthanols gegenüber der neurotoxischen Wirkung von n-Hexan abzuleiten.

In jüngerer Zeit wurden einige Studien über neurotoxische Stoffe bekannt, die einen hemmenden Einfluß auf die Neurotoxizität von n-Hexan ausüben.

TAKEUCHI und Mitarbeiter (151) konnten einen protektiven Effekt von Toluol gegenüber der neurotoxischen Wirkung von n-Hexan beobachten. In einer Langzeitstudie über 16 Wochen wurde das periphere Nervensystem der Ratten, die mit 1000 ppm n-Hexan und Toluol bedampft wurden, weniger beeinträchtigt als mit 1000 ppm n-Hexan allein. TAKEUCHI und Mitarbeiter vermuten die Ursache dieses Phänomens in einer Hemmung der Oxidation von n-Hexan in seine neurotoxischen Metaboliten durch Toluol.

ONO und Mitarbeiter (102) konnten nachweisen, daß einige Inhaltsstoffe von Petroleum-Benzol, selbst eine Mischung verschiedener organischer Lösemittel, die Neurotoxizität von n-Hexan hemmt.

NAKAJAMI und SATO (94), die die kombinierten Effekte von Toluol und Benzol ebenso wie von Toluol und Xylol studierten, stellten fest, daß Toluol in der Lage ist, die Oxidation der beiden anderen Stoffe zu hemmen.

In den meisten bisher bekannten Studien über Interaktionen von Lösungsmitteln wurden jedoch eher additive Effekte mitgeteilt.

1978 wurde von ALTENKIRCH und Mitarbeitern (6) erstmals in in-vivo und vitro nachgewiesen, daß MEK die Neurotoxizität von n-Hexan verstärkt. Nachdem von der Berliner Schnüffler-Szene jahrelang ein n-Hexan-haltiges Lösungsmittel in hohem Maße mißbraucht wurde, ohne daß neurologische Störungen auftraten, kam es zu einem epidemieartigen Ausbruch von Polyneuropathien, als das Lösungsmittel mit dem Vergällungstoff Methyl-Ethyl-Keton (MEK) versetzt wurde. Aus den klinischen Daten konnte auf einen potenzierenden Effekt des MEK auf die n-Hexan-Neurotoxizität geschlossen werden. Die Ergebnisse ließen sich in tierexperimentellen Studien bestätigen.

Ähnliche Zusammenhänge wurden bei einem Ausbruch von Neuropathien bei Druckereiarbeitern einer coated fabrics plant in Ohio sichtbar (3, 11). Das Lösungsmittelgemisch bestand aus MBK und MEK.

In nachträglich durchgeführten Tierversuchen konnte gezeigt werden, daß die kombinierte Wirkung von MBK und MEK bedeutend neurotoxischer war, als die von MBK allein.

In neueren tierexperimentellen Studien konnten ebenfalls additive Effekte von MEK auf die Neurotoxizität von Methyl-Heptyl-Keton festgestellt werden (32).

MISUMI und NAGANO (91) zeigten in ihrer tierexperimentellen Arbeit, daß nicht nur MEK in der Lage ist, die Neurotoxizität von MBK zu steigern. Sie konnten auch von anderen, selbst nicht neurotoxischen aliphatischen Monoketonen wie Methyl-n-Hexan-Keton eine potenzierende Wirkung auf die Neurotoxizität von MBK nachweisen. Ferner konnten sie beobachten, daß mit zunehmender Carbon-Kettenlänge der aliphatischen Monoketone der potenzierende Effekt hinsichtlich des MBK verstärkt zum Ausdruck kam.

5.4.6 Zusammenfassende Betrachtung zur Diskussion

- Gewichtsentwicklung: Sowohl die n-Hexan belastete als auch die Kombinationsgruppe n-Hexan/Äthanol zeigte Gewichtsverluste nach Beendigung der Expositionsphase.
Die n-Hexan-Gruppe war jedoch mit einer Gewichtsabnahme von durchschnittlich 20,3 % im Vergleich zum Äthanol/n-Hexan-Kollektiv von durchschnittlich 15,8 % zum Ausgangsgewicht deutlich stärker betroffen.

- Neurologische Befunde: In der Expositionsphase traten bei der n-Hexan behandelten Gruppe bereits in der 2. Woche Paresen auf bis hin zu einer kompletten Paraplegie in der 4. - 5. Woche. Deutlich pathologische Veränderungen auch hinsichtlich des Reflexverhaltens und der Prüfung des Klettertestes.
Die Tiere des Äthanol/n-Hexan-Kollektivs dagegen erreichten während der Expositionsphase nur leichte bis mittelgradige Veränderungen einer Bewegungsbeeinträchtigung. Auch die Reflexabschwächung war bedeutend geringer ausgeprägt.

- Biochemische Befunde: Weder die Transketolaseaktivitätsbestimmung im Blut noch die Gamma-Glutamyl-Transferase-Bestimmung im Serum ergab signifikant unterschiedliche Werte zwischen der n-Hexan und der Äthanol/n-Hexan-Gruppe.

- Lichtmikroskopische Befunde: In allen Versuchsgruppen konnten lichtmikroskopische Veränderungen des peripheren Nervensystems im Sinne von Axonschwellung, Axonzerfall und Ovoiden festgestellt werden.
Die Auswertung der morphologischen Befunde ergab eine durchschnittlich stärkere Schädigung in der n-Hexan-Gruppe (Gesamtbewertung 1,1/2,2) im Vergleich zum Äthanol/n-Hexan-Kollektiv (Gesamtbewertung 1,2/1,2)..

Die Leberpräparate zeigten keine bedeutenden Befunddifferenzen zwischen n-Hexan und Äthanol/n-Hexan behandelten Tieren.

Starke pathologische Veränderungen der Hinterbeinmuskulatur im Sinne von gruppenförmigen Atrophien und zahlreichen zentralen Muskelfaserkernen konnten bei der Ratte der n-Hexan-Gruppe konstatiert werden.

Das Tier des Äthanol/n-Hexan-Kollektivs wies dagegen lediglich Muskelschäden leichteren Grades auf.

Unsere Versuche haben gezeigt, daß die ausschließlich mit n-Hexan behandelten Tiere im Durchschnitt bedeutend stärker ausgeprägte klinische Symptome sowie morphologische Veränderungen aufwiesen, als die n-Hexan und zusätzlich Äthanol exponierten Ratten.

Vergleicht man dazu die wenigen zur Verfügung stehenden Studien, die sich mit der Interaktion von Äthanol und Kohlenwasserstoff auseinandersetzen (vgl. 5.3), so kommt man zu dem Schluß, daß in der Regel additive Effekte zu beobachten sind (15, 123, 165).

Wurden Ergebnisse erzielt, die Äthanol als Inhibitor im Metabolismus von Kohlenwasserstoffen erscheinen lassen (92a, 123, 125a), so sind dies Kurzzeitversuche, meist von wenigen Stunden Expositionsdauer.

In Langzeitversuchen mit Äthanol und Kohlenwasserstoffen werden stets Effekte beschrieben, die auf einen rascheren Metabolismus hinweisen (123, 165).

Als Erklärung kommt eine Induktion der mikrosomalen Monooxygenasen in Frage, deren Schlüsselenzym das Cytochrom p-450 darstellt (79a).

Eine Steigerung der Aktivität der mischfunktionellen Oxygenasen konnte auch bei n-Hexan exponierten Rattenlebern nachgewiesen werden (163).

Für die in unseren Versuchen nachgewiesene verminderte Neurotoxizität beim Aufeinandertreffen der beiden Agentien n-Hexan und Äthanol, haben wir folgende Erklärung:

Ähnlich wie CCl_4 entwickelt n-Hexan seine Toxizität erst voll nach Metabolisierung (79a, 133, 137).

Wie unsere Versuche zeigten, wird im Gegensatz zu CCl_4 jedoch offensichtlich die Verstoffwechslung von n-Hexan zu toxischeren Metaboliten (2,5-n-hexandion, 2,5-n-Hexandiol) durch Äthanol nicht gefördert, sondern eher gehemmt.

Es wäre deshalb möglich, daß Äthanol, welches auch während der gesamten Expositionsphase weiter verabreicht wurde, die Kapazität an vorhandenem Cytochrom-p-450 voll ausschöpft. Dadurch kann n-Hexan, ein sehr viel inerteerer Stoff als Äthanol, nur in geringerem Maße in seine toxischen Zwischenprodukte metabolisiert werden.

In weiteren Versuchen ließe sich die Richtigkeit dieser Annahme klären, wenn Äthanol-vorgefütterte Tiere während der n-Hexan-Expositionsphase keinen Alkohol erhielten. Die Neurotoxizität der n-Hexan-Metaboliten müßte dann voll zum Tragen kommen.

Außerdem müßten bei den einzelnen Kollektiven die Metaboliten des n-Hexans im Blut und Urin bestimmt werden. Diese z.B. gaschromatographisch durchzuführenden Analysen würden Aufschluß darüber geben, ob bei gleichzeitiger Belastung der Ratten mit Alkohol die 2,5-Hexandion-Konzentration im Blut und Urin tatsächlich gegenüber nur mit n-Hexan exponierten Tieren vermindert ist.

An dieser Stelle sei auf die Schwierigkeit der Reproduzierbarkeit von Ergebnissen aus verschiedenen Serien und Versuchsansätzen hingewiesen. Schon kleine Veränderungen der Versuchsbedingungen können die Ergebnisse wesentlich beeinflussen.

Die Zahl der veränderlichen Faktoren ist dabei so groß und reicht, wie in anderen Versuchen belegt wurde, von der Anzahl der Tiere, der Versuchsdauer, der Zusammensetzung der Kost, der Menge und Konzentration der applizierten Stoffe, sowie der Art der Fütterung bis zur Probengewinnung und deren Aufarbeitung, so daß von verschiedenen Gruppen durchgeführte Experimente schwerlich die gleichen Versuchsbedingungen aufweisen.

Bei einem Langzeitversuch wie diesem, kommt ein weiterer Unsicherheitsfaktor hinzu, der in den Versuchstieren selbst begründet liegt: bei einer Versuchsdauer von bis zu 20 Monaten, die bereits einen großen Teil der Lebenserwartung der Versuchstiere ausmacht, werden durch mögliche interkurrente Erkrankungen einzelner Tiere die Ergebnisse in einer nicht meßbaren Weise beeinflußt.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden tierexperimentelle Untersuchungen zur Neurotoxizität von n-Hexan und Äthanol am peripheren Nervensystem durchgeführt, um am bewährten Tiermodell Aufschlüsse über die kombinierte Wirkung beider Agentien bei berufsbedingter Belastung zu gewinnen.

Außerdem wurden die Effekte von n-Hexan und Aceton in Bezug auf die periphere Neurotoxizität ermittelt.

In der Äthanolbelastungsphase wurden 9 Wistar-Ratten 338 Tage mit bis zu 15 %igem Äthanol gefüttert. 4 dieser Tiere wurden während der letzten 4 Wochen der Äthanolbelastungsphase zusätzlich gegenüber n-Hexan exponiert ("Expositionsphase").

In der Expositionsphase wurden 24 Wistar-Ratten mit n-Hexan (Gruppe 1), Äthanol (wie oben beschrieben, Gruppe 3), Äthanol/n-Hexan (wie oben beschrieben, Gruppe 2), Aceton (Gruppe 5), Aceton/n-Hexan (Gruppe 4) und Kontrollgruppe, pro Gruppe 4 Tiere, behandelt.

Die Expositionsdauer betrug 43 Tage. Expositionszeit 24 Stunden/Tag/7 Tage pro Woche.

Eine Auswertung der Ergebnisse konnte bei 19 Tieren vorgenommen werden. Der Rest der Ratten verstarb während der Behandlungzeit.

Es wurden klinische, biochemische (γ -GT, Transketolaseaktivität) und lichtmikroskopische (peripheres Nervensystem, Leber, Muskel) Untersuchungen durchgeführt.

7 Tiere wurden in der sich anschließenden Regenerationsphase 100 weitere Tage zur Beobachtung von Spätfolgen nach o.g. Kriterien untersucht.

- 1) Klinische Befunde: Die Gewichtsverluste der n-Hexan-Gruppe gegenüber dem kombiniert exponierten Äthanol/n-Hexan-Kollektiv war signifikant höher.
Pathologische Veränderungen hinsichtlich des Reflexverhaltens der Tiere, des Bewegungsablaufes und der Kletterfähigkeit waren ebenfalls bei der n-Hexan-Gruppe stärker ausgeprägt, als bei der Äthanol/n-Hexan-Gruppe.
- 2) Die biochemischen Parameter zur Überwachung der Leberfunktion wie γ -Glutamyl-Transferase-Aktivität im Serum und Transketolaseaktivität im Blut, zeigten keine auffälligen Unterschiede beim Vergleich des n-Hexan und des Äthanol/n-Hexan-Kollektivs.
- 3) Die lichtmikroskopische Auswertung des peripheren Nervensystems (N. ischiadicus) ergab eine durchschnittlich stärkere Schädigung in der n-Hexan-Gruppe gegenüber der Äthanol/n-Hexan exponierten Gruppe.
Die untersuchten Leberpräparate zeigten keine eindeutige Pathologie.
In bezug auf die Hinterbeinmuskulatur mußten stärkste pathologische Veränderungen bei der n-Hexan-Gruppe im Vergleich zu nur leichten Schäden des Äthanol/n-Hexan-Kollektivs festgestellt werden.

Unsere Befunde haben gezeigt, daß beim Aufeinandertreffen der beiden Agentien n-Hexan und Äthanol mit einer geringeren Ausprägung der Neurotoxizität zu rechnen ist, als bei Monoapplikation von n-Hexan in gleicher Konzentration, so daß von einer protektiven Wirkung auszugehen ist.

Eine Klärung der Mechanismen, die zu diesen Effekten führen, muß in weiteren Studien erfolgen.

7. LITERATURLISTE

- 1) Abou-Donia, M.-B.; Makkawy, H.-A.M.; Graham, D.G.: The relative neurotoxicities of n-hexane, n-Butyl ketone, 2,5-Hexanediol, and 2,5-Hexanedione following oral or intraperitoneal administration in hens. Toxicology and applied Pharmacology 62, 369-389, (1982)
- 2) Albert, Z.; Rzucidlo, Z.; Starzyk, H.: Comparative biochemical studies on the activity of gamma-glutamyl transpeptidase in the organs of fetuses, newborns and adult rats. Acta histochem. Jena 37, 34-39, (1970)
- 3) Allen, N.; Mendell, J.R.; Billmaier, D.J.; Fontaine, R.E.; O'Neill, J.: Toxic polyneuropathy due to methyl n-butyl ketone. An industrial outbreak. Archives of Neurology 32, 209-218, (1975)
- 4) Altenkirch, H.: Schnüffelsucht und Schnüfflerneuropathie. Sozialdaten, Praktiken, klinische und neurologische Komplikationen sowie experimentelle Befunde des Lösungsmittelmisbrauchs. Habilitationsschrift an der Freien Universität Berlin (1980)
- 5) Altenkirch, H.; Mager, J.; Stoltenburg, G.; Helmbrecht, J.: Toxic polyneuropathies after sniffing a glue thinner. Journal of neurology 214, 137-152, (1977)
- 6) Altenkirch, H.; Stoltenburg, G.; Wagner, H.M.: Experimental studies on hydrocarbon neuropathies induced by methyl-ethyl-ketone. Journal of Neurology 219, 159-170, (1978)
- 7) Altenkirch, H.; Wagner, H.M.; Stoltenburg, G.; Spencer, P.S.: Nervous system responses of rats to sub-chronic inhalation of n-Hexane and n-Hexane + Methyl-Ethyl-Ketone. Journal of the neurological sciences 57, 209-219, (1982)
- 8) Altenkirch, H.; Wagner, H.M.; Stoltenburg-Didinger, G.; Steppat, R.: Potentiation of Hexacarbon-Neurotoxicity by Methyl-ethyl-ketone (MEK) and other substances: clinical and experimental Aspects. Neurobehavioural Toxicology and Teratology 4, 623-627, (1982)

- 9) Armati-Gulson, P.J.: The development of rat dorsal root ganglia in three experimental media containing Landry-Guillain-Barré, alcoholic peripheral neuropathy or normal adult sera. Neuropathology and applied Neurobiology, 7, 351-363, (1981)
- 10) Behse, F.; Buchthal, F.: Alcoholic neuropathy: Clinical, electrophysiological and biopsy findings. Ann Neurol 2, 95-110, (1977)
- 11) Billmaier, D.; Vee, H.T.; Allen, N.; Craft, B.; Williams, N.; Epstein, S.; Fontaine, R.: Peripheral neuropathy in a coated fabrics plant. Occupational Medicine 16, 665-671, (1974)
- 12) Bischoff, A.: Die alkoholische Polyneuropathie. Deutsche medizinische Wochenschrift, 8, Jahrgang 96, (1971)
- 13) Blackstock, E.; Rushworth, G.; Gath, D.: Electrophysiological studies in alcoholism. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr. 35, 326-334, (1972)
- 14) Bosch, E.P.; Pelham, R.W.; Rasool, C.G.; Chatterjee, A.; Lash, R.W.; Brown, L.; Munsat, T.L.; Bradley, W. G.: Animal models of alcoholic neuropathy: morphologic, electrophysiologic, and biochemical findings. Muscle and nerve, 2, 133-144, (1979)
- 15) Bourbon, P.; Broussy, G.; Puig, P.: Bull. med. Lég. 12, 130, (1969)
- 16) Bringmann, G.: Chemische Mechanismen der Alkohol-Wirkung. Naturwissenschaften 66, 22-27, (1979)
- 17) Buiatti, E.; Cecchini, S.; Ronchi, O.; Dolara, P.; Bulgarelli, G.: Relationship between clinical and electromyographic findings and exposure to solvents in shoe and leather workers. Brit. J. Industr. Med. 35, 168-173, (1978)
- 18) Carparella, C.: Polineuropatie tossiche nei calzaturifici: Aspetti preventivi. Annali dell'Ist. Super. Sanita 13, 355-366, (1977)
- 19) Casey, E.B.; LeQuesne, P.M.: Electrophysiological evidence for a distal lesion in alcoholic neuropathy. A morphometric study. J Neurol Neurosurg Psychiatr 35, 624-630, (1972)

- 20) Cavanagh, J.B.: The significance of the dying-back process in experimental and human neurological disease.
Int. Rev. Exp. Pathol. 3, 219-267, (1964)
- 21) Cianchetti, C.; Abbritti, G.; Perticoni, G.; Siracuse, A.; Currade, F.: Toxic polyneuropathy of shoe industry workers.
J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr. 39, 1151-1161, (1976)
- 22) Colombo, J.P.; Bircher, J.: Acquisition of an embryonal biochemical feature in the rat liver after portocaval shunt.
Experientia 29, 1232-1233, (1973)
- 23) Couri, D.; Nachtman, M.P.: Biochemical and biophysical studies of 2,5-hexanedione neuropathy.
Neurotoxicology 1, 269-283, (1979)
- 24) Delany, R.L.; Lankford, H.G.; Sullivan, J.F.: Thiamine, magnesium and plasma lactate abnormalities in alcoholic patients.
Proc. Soc. Exp. Biol. 123, 675, (1966)
- 25) Delbrück, W.-R.; Kluge, A.: Wirkung von n-Hexan auf Mensch und Tier. Forschungsbericht 174-2.
Dtsch. Ges. Mineralölwissenschaften - Kohlechemie, Hamburg (1982)
- 26) Denny-Brown, D.: The neurological aspects of thiamine deficiency.
Fed. Proc. 17, suppl. 2, 35-39, (1958)
- 27) Dettli, L.: Pharmakokinetic aspects of drug interaction, in: Clinical effects of interaction between drugs.
Cluff L.E.; Petrie, J.C.; (eds.), Excerpta medica, Amsterdam (1975)
- 28) Deutsche Forschungsgemeinschaft (Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe): Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen und Biologische Arbeitsstoff-Toleranzwerte 1982.
Verlag Chemie, Weinheim (1982)
- 29) Deutscher Gewerkschaftsbund, Bundesvorstand Düsseldorf, Vorsitzender Reinhold Konstanty in der PANORAMA Sendung des ARD v. 10.07.1984
- 30) Di Vincenzo, G.D.; Hamilton, M.L.; Kaplan, C.J.; Dedinas, J.: Metabolic fate and disposition of C-labelled methyl-n-butyl-ketone in the rat.
Tox. Appl. Pharm. 41, 547-560, (1977)

- 31) Di Vincenzo, G.D.; Hamilton, M.L.; Kaplan, C.J.; Krasavage, W.J.; O'Donoghue, J.L.: Studies on the skin absorption of methyl-n-butyl-ketone in humans and dogs.
Tox. Appl. Pharm. 41, 547-560, (1977)
- 32) Donoghue, O.; Krasavage, J.L.; Di Vincenzo, W.J.; Ziegler, D.A.: Commercial-grade methyl heptyl ketone (5-methyl-2-octanone) neurotoxicity: contribution of 5-nonanone.
Toxic. appl. Pharmac. 62, 307, (1982)
- 33) Dreyfus, P.M.:
New Eng. J. Med. 267, 596-598, (1962)
- 34) Duckett, S.; Williams, N.; Frances, S.: Peripheral neuropathy associated with inhalation of methyl-n-butyl-ketone.
Experientia 30, 1283-1284, (1974)
- 35) DuPont, R.L.; Basen, M.M.: Control of Alcohol and Drug Abuse in Industry - A Literature Review.
Public Health Reports 95, 2, 137-148, (1980)
- 36) Dyck, P.J.; Gutrecht, J.A.; Bastron, J.A.; Karnes, W.E.; Dale, A.J.: Histologic and teased-fibre measurements of sural nerve in disorders of lower motor and primary sensory neurons.
Proc. Mayo Clin. 43, 81-123, (1968)
- 37) Eben, A.; Flucke, W.; Mihail, F.; Thyssen, J.; Kimmerle, G.: Toxicological and metabolic studies of methyl n-butylketone, 2,5-hexandione, and 2,5-hexandiol in male-rats.
Ecotoxic. Envir. Safety 3, 204-217, (1979)
- 38) Erbslöh, F.; Abel, M.: Deficiency neuropathies.
In: Vinken, P.J.; Bruyn, G.W. (Eds.): Handbook of clinical neurology. Amsterdam, North Holland, Publishing Company, Vol. 7, 23, 558-663, (1970)
- 39) Feldmeyer, J.J.; Regli, F.: Les atteintes neurologiques de l'alcoolisme.
Thérapeutische Umschau/Revue thérapeutique, Band 38, Heft 5, (1981)
- 40) Feldmeyer, J.J.; Schneider, C.: Polyneuropathies éthyliques aiguës une entité clinique et électromyographique particulière.
Revue electrodiagnostic-Thérapie, (1980)

- 41) Feldmeyer, J.J.; Steck, A.J.; Regli, F.; Despland, P.A.: La polyneuropathie alcoolique.
Méd. et Hyg. 40, 3360-3366, (1982)
- 42) Fenelly, J.; Frank, O.; Baker; Leevy, C.M.: Peripheral neuropathy of the alcoholic.
Br. Med. J. 21, 1290-1293, (1964)
- 43) Freemon, F.R.: Causes of polyneuropathy.
Acta neurol. scand. Suppl. 59, 1-43, (1975)
- 44) Freundt, K.J.: Industrial chemicals and alcohol: interactions and work-Site-Risk.
In: L. Manzo et al. (eds.): Advances in Neurotoxicology. Pergamon Press Oxford and New York, 151-154, (1980)
- 45) Freundt, K.J.: Wechselwirkungen zwischen Arbeitsstoffen und Ethanol-Mechanismen, Pathogenität, Gesundheitsrisiken. Unfall- und Sicherheitsforschung, Straßenverkehr.
Heft 10, 93-108, (1977)
- 46) Freundt, K.J.: Kombinierte Belastung am Arbeitsplatz: Arbeitsstoffe und Alkohol.
Bericht über die 22. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin e.V. - Sonderdruck aus dem Jahresbericht (1982), Gentner Verlag Stuttgart
- 47) Frye, G.D.; Chapin, R.E.; Vogel, R.A.; Mailman, R.B.; Kilts, C.D.; Mueller, R.A.; Breese, G.R.: Effects of acute and chronic 1,3-Butanediol treatment on central nervous system function: a comparison with ethanol.
The Journal of Pharmacology and experimental Therapeutics, Vol. 216, No. 2, (1981)
- 48) Fullerton, P.M.: Chronic peripheral neuropathy produced by lead poisoning in guinea pigs.
J. Neuropath. exp. Neurol. 25, 214-233, (1966)
- 49) Funk, F.: Polyneuropathie und Lebererkrankung.
Hab.-Schrift, Heidelberg (1970)
- 50) Gillies, P.J.; Norton, R.M.; Bus, J.S.: Effect of 2,5 Hexandione on lipid biosynthesis in sciatic nerve and brain of the rat.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 54, 210-216, (1980)
- 51) Gillies, P.J.; Norton, R.M.; White, E.L.; Bus, J.S.: Inhibition of sciatic nerve sterologenesi in hexa-carbon-induced distal axonopathy in the rat.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 217-222, 54, (1980 b)

- 52) Gombault, M.: Sur les lésions de la névrite alcoolique.
C R Acad Sci (Paris) 102, 439-440, (1886)
- 53) Gonzalez, E.; Downey, J.: Polyneuropathy in a glue-sniffer.
Archives of physical medicine and rehabilitation 53, 333 (1972)
- 54) Gottschall, D.: Suchthilfe vor Ort.
Manager Magazin 6, 42-50, (1980)
- 55) Graham, D.G.: Hexane Neuropathy: A proposal for pathogenesis of a Hazard of occupational exposure and inhalant abuse.
Chem. Biol. Interactions 32, 339-345, (1980)
- 56) Graham, D.G.; Abou-Donia, M.B.: Studies of molecular pathogenesis of n-Hexane neuropathy. I. Evaluation of the inhibition of glyceraldehyde-3-phosphate Dehydrogenase by 2,5-Hexanedione.
Journal of Toxicology and environmental health, 6, 621-631, (1980)
- 57) Graham, G. D.; Carter, A.; Boekelheide, K.: In Vitro and in Vivo Studies of the molecular Pathogenesis of n-Hexane-Neuropathy.
Neurobeh. Toxicol. Taratol. 4 (6), 629-634, (1982)
- 58) Griffin, J.W.; Hoffman, P.N.; Clark, A.W.: Slow axonal transport: Selective blockade by iminodipropionitrile.
Science 202, 633, (1978)
- 59) Griffin, J.W.; Price, D.L.; Spencer, P.S.: Fast axonal transport through giant axonal swellings in hexa-carbon neuropathy.
J. Neuropathy. Exp. Neurol. 36, 603, (1977)
- 60) Grover-Johnson, N.; Spencer, P.S.: Peripheral nerve abnormalities in aging rats.
J. Neuropath. exp. Neurol. 40, 155-165, (1980)
- 61) Hakkinen, H.-M.; Franssila, K.; Kulonen, E.: Effect of long-term administration of ethanol to the rat: Lipids, collagen and other proteins and Mallory bodies in the liver.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 4, 753, (1975)
- 62) Hallen, O.: Neundörfer, B.; v. Rad, M.: Neurologische Erkrankungen bei chronischem Alkoholismus.
Nervenarzt 42, 57-62, (1971)

- 63) Hawkins, R.D.; Kalant, H.; Khanna, J.M.: Effects of chronic intake of ethanol on rate of ethanol metabolism.
Can. J. Physiol. Pharm. 44, 241, (1966)
- 64) Herskowitz, A.; Ishii, N.; Schaumburg, H.H.: n-Hexan neuropathy, a syndrome occurring as a result of industrial exposure.
New England Journal of medicine 285, 82, (1971)
- 65) Hillbom, M.; Kaste, M.: Ethanol intoxication: a risk factor for ischemic brain infarction in adolescents and young adults.
Stroke, Vol. 12, No. 4, (1981)
- 66) Hornabrook, R.W.: Alcoholic neuropathy.
American Journal of clinical nutrition, Vol. 9, July-August (1961)
- 67) Jackson, J.:
New Engl. J. Med. 11, 351, 1822
Zit. nach Jolliffe, N.: Vitamin deficiencies and liver cirrhosis in alcohol.
Quart J. Stud. Alcohol I, 517, (1940)
- 68) Janzen, R.; Balzereit, F.: Polyneuropathie bei Alkoholabusus.
Internist 9, 260, (1968)
- 69) Jolliffe, N.: Vitamin deficiencies in chronic alcoholism.
In: Jellinek, E.M.: Effects of alcohol on the individual.
New Haven, Yale Univ. Press, (1942)
- 70) Juntunen, J.: Alcoholism in occupational neurology: diagnostic difficulties with special reference to the neurological syndromes caused on exposure to organic solvents.
Acta neurol. scandinav. Suppl. 92, Vol. 66, 89-108, (1982)
- 71) Juntunen, J.; Haltia, M.; Linnoila, I.: Histochemically demonstrable non-specific cholinesterases as an indicator of peripheral nerve lesion in carbon disulfide-induced polyneuropathy.
Acta neuropath. (Berlin), 29, 361-366, (1974)
- 72) Juntunen, J.; Teräsväinen, H.; Eriksson, K.; Larsen, A.; Hillbom, M.: Peripheral Neuropathy and Myopathy.
Virchows Arch. A Path. Anat. and Histol. 383, 241-252, (1979)

- 73) Juntunen, J.; Teräväinen, H.; Eriksson, K.; Panula, P.; Larsen, A.: Experimental alcoholic neuropathy in the rat: histological and electrophysiological study on the myoneural junctions and the peripheral nerves. *Acta neuropath.* (Berlin) 41, 131-137, (1978)
- 74) Kark, R.A.P.; Brown, W.J.; Edgerton, V.R.; Reynolds, S.F.; Gibson, G.: Experimental thiamine deficiency. Neuropathic and mitochondrial changes induced in rat muscle. *Arch. Neurol.* 32, 818-825, (1975)
- 75) Kempainen, R.; Juntunen, J.; Hillbom, M.: Drinking habits and peripheral alcoholic neuropathy. *Acta neurol. scandinav.* 65, 11-18, (1982)
- 76) Klatskin, G.; Gewin, H.M.; Krehl, W.A.: Effect of prolonged alcohol ingestion on the liver of the rat under condition of controlled adequate dietary intake. *Yale J. Biol. Med.* 23, 317, (1951)
- 77) Koch, O.R.; Porta, E.A.; Hartroft, W.S.: A new experimental approach in the study of chronic alcoholism. V. Super diet. *Lab. Invest.* 21, 298, (1969)
- 78) Kohlmeyer, K.: Neuritis und Polyneuritis heute unter besonderer Berücksichtigung der diabetischen und alkoholischen Nervenschäden. *Therapiewoche* 19, 1257, (1969)
- 79) Lettsom, J.C.: *Mem. Med. Soc. (Lond.)* I, 128 (1787)
Zit. nach Jolliffe, N.: Vitamin deficiencies and liver cirrhosis in alcohol. *Quart J. Stud. Alcohol* I, 517, (1940)
- 79a) Lieber, C.S.; DeCarli, L.M.; Feinman, L.; Hasamura, Y.; Korsten, M.; Matsuzaki, S.; Teschke, R.: Effects of chronic alcohol consumption on ethanol and acetaldehyde metabolism. *Eds. Gross, M.M., Advances in experimental medicine and biology. Vol. 59, II Plenum, Press, NY* (1975)
- 80) Lieber, C.S.: Liver disease and alcohol-fatty liver, alcoholic hepatitis, cirrhosis, and their interrelationships. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 252, 63, (1975)
- 81) Mahaffey, K.R.; Goyer, R.A.; Wilson, M.H.: *Arch. Environ. Hlth.* 28, 217, (1974)

- 82) Malizia, E.; Borgo, S.; Carapella, C.; Chiavarelli, V.; Russo, A.; Gagliardi, V.; Amato, A.; Smeriglio, M.: Organic Glue Neuropathies: Epidemiology, Clinical Investigation and Therapy of 100 Cases.
Arch. Toxicology Suppl. 5, 103-104, (1982)
- 83) Mancall, E.L.: Some unusual neurologic diseases complicating chronic alcoholism.
American Journal of clinical nutrition, Vol. 9, (July-August 1961)
- 84) Mannheims, R.: Alkohol am Arbeitsplatz.
Der Kassenarzt 22, Heft 34, 3942-3946, (1982)
- 85) Mattila, M.J.: Pharmakokinetic aspects of drug-alcohol interaction.
7th International Congress of Pharmacology
abstract No. 1594, Pergamon Press, Paris, (1978)
- 86) Mawdsley, C.; Mayer, R.F.: Nerve conduction in alcoholic polyneuropathy.
Brain 88, 335-356, (1965)
- 87) Meek, J.L.; Majchrowicz, E.; Lipton, M.A.: Rates of $C^{14}O_2$ production from labeled ethanol, acetate, and glucose in alcohol drinking and non-drinking rats.
Proc. of the Society for Exp. Biol. Med. 126, 379, (1967)
- 88) Melgaard, B.: The neurotoxicity of ethanol. Review article.
Acta Neurol. Scand. 67, 131-142, (1983)
- 89) Mendell, J.R.; Saida, K.; Ganansia, M.F.; Jackson, D.B.; Weiss, H.; Gardier, R.W.; Chrisman, C.; Allen, N.; Couri, D.; O'Neill, J.; Marks, B.; Hetland, L.: Polyneuropathy produced by Methyl-n-Buthyl Ketone.
Science 185, 787-789, (1974)
- 90) Meyer, J.G.; Neundörfer, B.; Rethel, R.; Walker, G.; Bayerl, J.: Über die Beziehung zwischen alkoholischer Polyneuropathie und Vitamin B_1 , B_{12} und Folsäure.
Nervenarzt 52, 329-332, (1981)
- 91) Misumi, J.; Nagano, M.: Experimental study on enhancement of neurotoxicity of methyl n-butyl ketone by non-neurotoxic aliphatic monoketones.
Persönliche Mitteilung 1984 an Prof. Altenkirch
- 92) Moore, M.R.:
Biochem. J. 129, 43 (1972)

- 92a) Müller, G.; Spassowski, M.; Henschler, D.: Metabolism of trichlorethylene in man. III. Interaction of trichlorethylene and alcohol.
Arch. Toxicol. 23, 173-189, (1975)
- 93) Mutti, A.; Cavatorta; Lommi, G.; Lotta, S.; Franchini, I.: Neurophysiological Effects of Long-Term Exposure to Hydrocarbon Mixtures.
New Toxicology for old
Arch. Toxicol. Suppl. 5, 120-124, (1982)
- 94) Nakajima, T.; Sato, A.: Metabolic antagonism among benzene, toluene and m-xylene in vivo.
Jpn. J. Ind. Health 21, 546-547, (1979)
- 95) Neundörfer, B.: Ein Beitrag zur Alkoholpolyneuropathie. Klinisches Bild sowie elektromyografische und elektro-neurografische Untersuchungsergebnisse.
Fortschr. Neurol. Psychiatr. 40, 270, (1972)
- 96) Neundörfer, B.: Die alkoholische Polyneuropathie.
akt. neurol. 1, 169-174, (1974)
- 97) Neundörfer, B.; Niemöller, K.: Neurologische Störungen bei Alkoholkranken.
Therapiewoche 31, 4317-4326, (1981)
- 98) Niedermeyer, E.; Prokop, H.: Zum klinischen Bild der Alkohol-Polyneuritis.
Arch. Psychiatr. Nervenkr. 198, 274, (1959)
- 99) Nomiyama, K.; Nomiyama, H.: Respiratory retention, uptake and excretion of organic solvents in man.
Int. Arch. Arbeitsmed. 32, 75-83, (1974)
- 100) Nozaki, M.; Ling, G.; Okamoto, M.: Effects of Ethanol dependence on chronic spinal rats monitored by spontaneous hind leg movements.
The Journal of Pharmacology and experimental therapeutics, Vol. 217, No. 3, (1981)
- 101) Oishi, H.; Mineno, K.; Yamada, M.; Chiba, K.; Shibata, K.: Polyneuropathy caused by an organic solvent (n-hexane).
Saigai-Igaku, 7, 218, (1964)
- 102) Ono, Y.; Takeuchi, Y.; Hisanago, N.; Iwata, M.; Kitoh, J.; Sagiura, Y.: Neurotoxicity of Petroleum Benzine Compared with n-Hexane.
Int. Arch. Occup. Environ. Health 50, 219-229, (1982)
- 103) Oppenheim, H.: Die multiple Neuritis (Polyneuritis). In: Lehrbuch der Nervenkrankheiten, Bd. 1, 2. spez. Teil. Kerger, Berlin, (1908)

- 104) Patek, A.J.; Bowry, S.C.; Sabesin, S.M.: Minimal hepatic changes in rats fed alcohol and a high casein diet. Arch. Pathol. Lab. Med. 100, 19, (1976)
- 105) Paulson, G.W.; Waylonis, G.W.: Polyneuropathy due to n-hexane. Archives of Internal medicine 136, 880, (1976)
- 106) Pawlik, E.; Bischoff, A.; Bitsch, I.: Peripheral nerve changes in thiamine deficiency and starvation. Acta Neuropathol. (Berlin) 39, 211-218, (1977)
- 107) Pease, D.C.: Histological Technics for electron microscopy. Academic press, New York (1960)
- 108) Perbellini, L.F.; Brugnone, E.; Pastorello, G.; Grigo-
lini, L.: Urinary excretion of n-hexane metabolites in rats and humans. Int. Arch. Occup. Environ. Health 42, 349-354, (1979)
- 109) Persijn, J.P.; van der Slik, W.: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 14, 421, (1976)
- 110) Pohorecki, L.A.: Animal analog of alcohol dependence. Federation proceedings, Vol. 40, No. 7, (1981)
- 111) Poppe, W.; Thümmeler, U.; Lehmann, J.: Alkohol und Schäd-
en am zentralen und peripheren Nervensystem. Z. ges. inn. Med., 36, Heft 16, (1981)
- 112) Rabin, R.A.; Wolfe, B.B.; Dibner, M.D.; Zahniser, N.R.;
Melchior, C.; Molinoff, P.B.: Effects of Ethanol Admini-
stration and Withdrawal on neurotransmitter receptor
Systems in C 57 Mice. The Journal of Pharmacology and experimental therapeu-
tics, Vol. 213, No. 3, (1980)
- 113) Ratcliffe, F.: The effect of chronic ethanol admini-
stration on the growth of rats. Arch. int. de Pharmacodynamie et de Thérapie 197, 19,
(1972)
- 114) Richardson, S.: Stain Technology 35, 313-323, (1960)
- 115) Rizzuto, W.; Terzian, H.; Galiazzo-Rizzuto, S.: Toxic polyneuropathies in Italy due to leather ce-
ment poisoning in shoe-industries. A light - and
electronmicroscopic study. Journal of the neurological sciences 31, 343, (1977)

- 116) Rollason, J.G.: Serum gamma glutamyl transpeptidase in relation to alcohol consumption.
Clin. Chim. Acta 39, 75-80, (1972)
- 117) Rosalki, S.B.; Rau, D.: Serum gamma-glutamyl transpeptidase in alcoholism.
Clin. Chim. Acta 39, 41-47, (1972)
- 118) Sabri, M.I.; Ederle, K.; Holdsworth, C.E.; Spencer, P.S.: Studies on the biochemical basis of distal axonopathies. II. Specific inhibition of Fructose-6-Phosphate Kinase by 2,6-Hexandione and Methyl-Butyl-Ketone.
Neurotoxicology 1, 285-297, (1979)
- 119) Sabri, M.I.; Moore, C.L.; Spencer, P.S.: Studies on the biochemical basis of distal axonalpathies.
J. Neurochem. 32, 683-689, (1979)
- 120) Sabri, M.I.; Ochs, S.: Inhibition of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in mammalian nerve by iodoacetic acid.
J. Neurochem. 18, 1509-1514, (1971)
- 121) Sabri, M.I.; Ochs, S.: Relation of ATP and creatine phosphate to fast axonal transport in mammalian nerve.
J. Neurochem. 19, 2821-2828, (1972)
- 122) Saida, K.; Mendell, J.R.; Weiss, H.: Peripheral nerve changes induced by methyl n-butyl ketone and potentiation by methyl ethyl ketone.
Journal of neuropathology and experimental neurology 35, 207, (1976)
- 123) Savolainen, K.: Combined effects of Xylene and Alcohol on the central nervous system.
Acta pharmacol. et toxicol. 46, 366-372, (1980)
- 124) Savolainen, K.; Pfäffli, P.; Helojoki, M.; Tengén, M.: Neurochemical and behavioural effects of long-term intermittent inhalation of Xylene Vapour and simultaneous Ethanol Intake.
Acta pharmacol. et toxicol. 44, 200-207, (1979)
- 125) Savolainen, H.: Neurotoxicity of industrial chemicals and contaminants: aspects of biochemical mechanism and effects.
New Toxicology for O d
Arch. Toxicol. Suppl. 5, 71-83, (1982)

- 125a) Savolainen, H.; Vainio, H.; Helojoki, M.; Elovaara, E.: Biochemical and toxicological effects of short-term xylene inhalation exposure and combined ethanol intakes.
Arch. Toxicol. 41, 195-205, (1978)
- 126) Seixas, F.A.: Alcohol and its drug interactions.
Ann. Int. Med. 83, 86, (1975)
- 127) Shouten, H.; Statius van Eps, L.W.; Struyker Boudier, A.M.: Transketolase in blood.
Clin. Chim. Acta 10, 474-476, (1964)
- 128) Sjöstrand, F.S.: Electron microscopy of cells and tissues.
Academic Press, Vol. 1, New York (1967)
- 129) Smith, R.: Alcohol and work: a promising approach.
British medical journal, 283, 1108-1110, (1981)
- 130) Sobue, I.; Yamamura, Y.; Ando, K.; Iida, M.; Takajanagi, T.: n-hexane polyneuropathy outbreak among vinyl sandal manufacturers.
Clinical Neurology 8, 393, (1968)
- 131) Soehring, K.; Schüppel, R.: Wechselwirkungen zwischen Arzneimitteln und Alkohol.
Dtsch. Med. Wochenschrift 91, 1892, (1966)
- 132) Spencer, P.S.; Schaumburg, H.H.: Ultrastructural studies of the dying back process.
J. Neuropath. Experiment. Neurol. 36, 276-320, (1977)
- 133) Spencer, P.S.; Bischoff, M.C.; Schaumburg, H.H.: On the specific molecular configuration of neurotoxic aliphatic hexacarbon compounds causing central-peripheral distal axonopathy.
Toxicology and Applied Pharmacology 44, 17-28, (1978)
- 134) Spencer, P.S.; Couri, D.; Schaumburg, H.H.: n-Hexane and Methyl n-Butyl Ketone.
Experimental and Clinical neurotoxicology, eds. P.S. Spencer and H.H. Schaumburg, Chapt. 32, Williams and Wilkins Baltimore/London (1980)
- 135) Spencer, P.S.; Ochoa, J.: The mammalian peripheral Nervous system in old age.
In: J. Johnson (Ed.), Aging and Cell Structure, Raven Press, New York, pp. 35-103, (1981)

- 136) Spencer, P.S.; Sabri, M.I.; Schaumburg, H.H.; Moore, C.L.: Hypothesis - Does a defect of energy metabolism in the nerve fiber underlie axonal degeneration in polyneuropathies?
Ann. Neurol. 5, 501-507, (1979)
- 137) Spencer, P.S.; Schaumburg, H.H.: Neurotoxic Properties of certain aliphatic hexacarbons.
Proc. Royal Soc. Med. 70, 37-39, (1977)
- 138) Spencer, P.S.; Schaumburg, H.H.: Central-peripheral distal axonopathy - The Pathology of Dying-Back Polyneuropathies.
Progress in Neuropathology, Vol. III,
Editor: H.M. Zimmermann
Grune & Stratton New York, San Francisco, London (1976)
- 139) Spencer, P.S.; Schaumburg, H.H.: Pathobiology of neurotoxic axonal Degeneration.
Physiology and Pathobiology of Axons, edited by S.G. Waxman, Raven Press, New York (1978)
- 140) Spencer, P.S.; Schaumburg, H.H.; Raleigh, R.L.; Terhaar, C.J.: Nervous system degeneration produced by the industrial solvent methyl-n-butyl-ketone.
Arch. Neurol. 32, 219-222, (1975)
- 141) Spencer, P.S.; Schaumburg, H.H.; Sabri, M.I.; Veronesi, B.: The enlarging view of hexacarbon neurotoxicity.
Critical Reviews in Toxicology 7, 279-357, (1980)
- 142) Szasz, G.; Persijn, J.P.:
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 12, 228, (1974)
- 143) Schaumburg, H.H.; Spencer, P.S.: Toxic neuropathies - clinical review.
Neurology 29, 4, (1979)
- 144) Schaumburg, H.H.; Spencer, P.S.: Environmental hydrocarbons produced degeneration in cat hypothalamus and optic tract.
Science 199, 199-200, (1978)
- 145) Schaumburg, H.H.; Spencer, P.S.: Degeneration in central and peripheral nervous systems produced by pure n-Hexane: an experimental study.
Brain 99, 183-192, (1976)

- 146) Scheid, W.: Lehrbuch der Neurologie.
5. Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart, (1983)
- 147) Scheid, W. und Huhn, A.: Chronischer Alkoholismus:
Alkoholpsychosen, Alkoholpolyneuritis und andere
Schädigungen des Nervensystems.
In: Almanach für Neurologie und Psychiatrie 1967,
München (1967)
- 148) Schiffter, R.; Reuter, W.; Borner, K.: Ist Vitamin B₁
ein Heilmittel gegen Neuropathien?
Dtsch. Ärzteblatt, 3044-3046, (1979)
- 149) Schmidt, E.; Schmidt, F.K.: Enzym-Muster.
Diagnostik 8, 427-432, (1975)
- 150) Takeuchi, Y.; Mabuchi, C.; Takagi, S.: Polyneuropathy
caused by Petroleum Benzine.
Int. Arch. Arbeitsmed. 34, 185-197, (1975)
- 152) Takeuchi, Y.; Ono, Y.; Hisanaga, N.: An experimental
study on the combined effects of n-Hexane and
toluene on the peripheral nerve of the rat.
British Journal of Industrial Medicine, 38, 14-19,
(1981)
- 152) Takeuchi, Y.; Ono, Y.; Hisanaga, N.; Kitoh, J.;
Sugiura, Y.: A comparative study on the neurotoxicity
of n-Pentane, n-hexane and n-heptane in the rat.
British Journal of industrial medicine, Vol. 37,
241-247, (1980)
- 153) Teräsväinen, H.; Juntunen, J.; Eriksson, K.; Larsen,
A.: Myopathy associated with chronic alcohol drinking.
Histological and electrophysiological study.
Virchows Arch. A. Path. Anat. and Histol. 378, 45-
53, (1978)
- 154) Thomas, P.K.: The morphological basis for alterations
in nerve conduction in peripheral neuropathy.
Proc. Roy. Soc. Med. 64, 295-298, (1971)
- 155) Thomson, A.; Backer, H.; Leevy, C.M.: Thiamine absorption
in alcoholism.
Am. J. Clin. Nutr. 21, 537-538, (1968)
- 156) Torvik, A.; Lindboe, C.F.; Rogde, S.: Brain lesions
in alcoholics.
J. neurol. Sci. 56, 233-248, (1982)

- 157) Towfighi, J.; Gonatas, N.K.; Pleasure, D.; Cooper, H.S.; McCree, L.: Glue sniffers neuropathy. *Neurology* 26, 238-243, (1976)
- 158) Tredici, G.; Minazzi, M.: Alcoholic neuropathy - An electron-microscopic study. *Journal of the neurological sciences*, 25, 333-346, (1975)
- 159) Triebig, G.; Braune, U.: Neurotoxische Arbeitsstoffe: II. Organische Substanzen - Eine Übersicht der Jahre 1970 bis 1982. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B* 178, 207-258, (1983)
- 160) Veronesi, B.; Peterson, E.R.; Bornstein, M.B.; Spencer, P.: Ultrastructural studies of the dying-back process. VI. Examination of nerve fibers undergoing Giant axonal degeneration in organotypic culture. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* Vol. 42, 153-165, (1983)
- 161) Victor, M.; Adams, R.D.: On the etiology of the alcoholic neurologic diseases. *American Journal of clinical nutrition*, Vol. 9, Number 4, July-August (1961)
- 162) Victor, M.: Polyneuropathy due to nutritional deficiency and alcoholism. In: *Peripheral neuropathy*, P.J. Dyck, P.K. Thomas, E.H. Lambert (eds.), Vol. 2, 1030-1066, London: W.B. Saunders (1975)
- 163) Wagner, H.M.; Altenkirch, H.; Hiort, U.; Stockdreher, A.: Die Wirkung akuter und chronischer Exposition gegenüber organischen Lösemittelgemischen auf die Aktivität der mikrosomalen Monooxygenasen in der Rattenleber. *Wissenschaft und Umwelt* (2/1983)
- 164) Wada, Y.; Okamoto, S.; Takagi, S.: Intoxication polyneuropathy following n-hexane. *Clinical Neurology*, 5, 591, (1965)
- 165) Waldron, H.A.: The effect of ethanol on blood Toluene concentrations. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 51, 365-369, (1983)

- 166) Wallgren, H.; Berry, H.: Actions of alcohol. Vol.1.
Elsevier.
Amsterdam, London, New York (1975)
- 167) Walsh, J.C.; McLeod, J.G.: Alcoholic neuropathy -
An electrophysiological and histological study.
J. neurol. Sci. 10, 457-469, (1970)
- 168) Wechsler, I.S.: Etiology of polyneuritis.
Arch. Neurol. Psychiat. (Chic.) 29, 813, (1933)
- 169) Weller, R.O.; Cervos Navarro J.: Pathology of peri-
pheral nerves.
Butterworth. London, Boston (1977)
- 170) Wertheim-Salomonsen, I.K.A.: Neuritis and Polyneuri-
tis.
In: Lewandowsky's Handbuch der Neurologie.
Bd. II. Springer, Berlin (1911)
- 171) Wilkinson, P.A.; Kornaczewski, J.G.; Rankin, J.N.;
Santamaria, J.N.: Physical disease in alcoholism,
initial survey of 1000 patients.
Med. J. Aust. 11, 1217-1223, (1971)
- 172) Winter, F.: Tierexperimentelle Untersuchung zur
Neurotoxizität von n-Hexan und 2-Butanon.
Inaugural-Dissertation 1978, FU Berlin
- 173) Yamada, S.: Intoxication polyneuritis in the workers
exposed to n-hexane.
Japanese Journal of Industrial Health 9, 651, (1967)
- 174) Yamada, S.: An occurrence of polyneuritis by n-hexane
in the polyethylene laminating plants.
Japanese Journal of Industrial Health 6, 192, (1954)
- 175) Zein, M.; Discombe, G.: Serum gamma-glutamyl trans-
peptidase as a diagnostic aid.
Lancet 2, 748-750, (1970)

Mein besonderer Dank gilt:

Herrn PD Dr. H. Altenkirch für die Überlassung des Themas, die jederzeit gewährte Unterstützung sowie die wertvollen Anregungen bei der Durchführung der Arbeit;

Herrn Professor M. Wagner für die freizügigen Arbeitsbedingungen im Bundesgesundheitsamt, Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene und die zahlreichen Ratschläge bei der Durchführung und Auswertung der Experimente;

Frau PD Dr. G. Stoltenburg-Didinger vom Neuropathologischen Institut des Klinikum Steglitz für die Hilfe bei der Auswertung experimenteller und morphologischer Ergebnisse;

Herrn Dr. Jautzke vom Pathologischen Institut des Klinikum Steglitz für die Gutachtertätigkeit bei der morphologischen Auswertung von Leberschäden;

den Mitarbeitern des Neurologischen und Neuropathologischen Instituts, die mir bei der Herstellung der Präparate mit Rat und Tat zur Seite standen;

den Assistentinnen im Labor von Prof. Dr. Wagner - Frau Gleue, Frau Obarius, Frau WöB für die technische Assistenz und Betreuung der Experimente.

LEBENS LAUF

15.03.1953	Geburt in Magdeburg Vater: Vers.-Insp. Reinhold Leps Mutter: Lucia Leps, geb. Heine
1959-1964	Grundschule Harxheim/Zell
1964-1969	Nordpfalzgynasium Kirchheimbo- landen
1969-1972	Ausbildung als Speditionskaufmann, Worms/Rhein
1972-1973	Fachoberschule für Wirtschaft, Worms/Rhein
1973-1975	Fachhochschule für Wirtschaft, Berlin-West
1975-1982	Studium der Humanmedizin, Berlin- West
01.02.1983 bis 31.03.1984	Assistenzarzt in der Anästhesie- Abteilung, St. Joseph-Krankenhaus Berlin-West
seit 01.10.1984	Assistenzarzt in der Wannsee- Klinik

